

Rapport scientifique

Edition 2019

BIOINDIC

Identification d'indicateurs biologiques
du fonctionnement des écosystèmes
miniers restaurés



Rapport Scientifique 2019

**Identification d'indicateurs
biologiques du fonctionnement des
écosystèmes miniers restaurés
(acronyme : « Bioindic »)**

RAPPORT FINAL



*Étude réalisée dans le cadre des programmes de recherche financés par
le CNRT « Nickel & son environnement »*

Septembre 2019



Identification d'indicateurs biologiques du fonctionnement des écosystèmes miniers restaurés

Acronyme : « Bioindic »

Rapport final

Septembre 2019

Ouvrage collectif coordonné par Fabian CARRICONDE (Institut Agronomique néo-Calédonien (IAC) – Axe 2)

Pour le consortium IAC – Cirad – UNC – IRD – Univ. Montpellier

AUTEURS :

Fabian CARRICONDE (IAC)

Nicolas FERNANDEZ NUNEZ (IAC)

Julie RIPOLL (IAC)

Audrey LEOPOLD (IAC)

Bruno FOGLIANI (IAC)

Yawiya ITITIATY (IAC)

Mélanie LELIEVRE (IAC)

Kelly LETELLIER (IAC)

Laurent MAGGIA (Cirad-IAC)

Géraldine BIDAU (IAC)

Laurent L'HUILLIER (IAC)

Hamid AMIR (UNC)

Yvon CAVALOC (UNC)

Marc DUCOUSSO (Cirad)

Antoine GALIANA (Cirad)

Laure HANNIBAL (IRD)

Philippe JOURAND (IRD)

Michel LEBRUN (Univ. Montpellier)

REVISION DU DOCUMENT

Réf.	CSF n° 1PS2013-CNRT.IAC/BIOINDIC			
Version	Date	Rédacteur(s)	Qualité du rédacteur(s)	Révision pour CNRT
V1	29/09/2019	Fabian CARRICONDE, Nicolas FERNANDEZ, Julie RIPOLL, Audrey LEOPOLD, Bruno FOGLIANI, Yawiya ITITIATY, Laurent MAGGIA, Hamid AMIR, Yvon CAVALOC, Marc DUCOUSSO, Philippe JOURAND.	Le coordinateur, les responsables de tâches, chercheurs, doctorant et VSC.	France BAILLY
V2	03/08/2020	Fabian CARRICONDE, Nicolas FERNANDEZ, Julie RIPOLL, Audrey LEOPOLD, Bruno FOGLIANI, Yawiya ITITIATY, Laurent MAGGIA, Hamid AMIR, Yvon CAVALOC, Marc DUCOUSSO, Philippe JOURAND.	Le coordinateur, les responsables de tâches, chercheurs, doctorant et VSC.	France BAILLY

CITATION DU DOCUMENT

Mots clés : sites revégétalisés, milieux naturels, chronoséquence, bioindicateurs, microorganismes du sol, symbiose, plantes, écologie des communautés, écologie des semences, génétique des populations, ADN environnemental (ADNe), métabarcoding.

En bibliographie, ce rapport sera cité de la façon suivante :

Fabian CARRICONDE, Nicolas FERNANDEZ NUNEZ, Julie RIPOLL, Audrey LEOPOLD, Bruno FOGLIANI, Yawiya ITITIATY, Mélanie LELIEVRE, Kelly LETELLIER, Laurent MAGGIA, Géraldine BIDAUD, Laurent L'HUILLIER, Hamid AMIR, Yvon CAVALOC, Marc DUCOUSSO, Antoine GALIANA, Laure HANNIBAL, Philippe JOURAND, Michel LEBRUN. 2019. Identification d'indicateurs biologiques du fonctionnement des écosystèmes miniers restaurés. Acronyme : « Bioindic ». Rapport final de convention CNRT. 272pp.

SOMMAIRE

1. Table des matières

1. INTRODUCTION GENERALE.....	24
1.1. QUELQUES ELEMENTS DE CONTEXTE.....	24
1.2. RESTAURATION ECOLOGIQUE ET MICROFLORE DU SOL	25
1.3. RESTAURATION ECOLOGIQUE ET POPULATIONS VEGETALES.....	26
1.4. OBJECTIFS DU PROJET	28
1.5. REFERENCES	30
2. DES MICROORGANISMES AUX PLANTES, DES GENES AUX COMMUNAUTES, UNE APPROCHE COMMUNE.....	36
2.1. DOMAINES D'ETUDE ET STRUCTURE EN TACHES.....	36
2.2. SELECTION DES SITES REVEGETALISES.....	37
2.3. FORMATIONS VEGETALES DE REFERENCE : UNE APPROCHE PAR CHRONOSEQUENCE.....	41
2.4. UNE STRATEGIE COMMUNE D'ECHANTILLONNAGE DU SOL.....	43
2.5. REFERENCES.....	46
3. MICROFLORE DU SOL.....	47
3.1. DIVERSITE GLOBALE EN CHAMPIGNONS ET BACTERIES DU SOL : ADN ENVIRONNEMENTAL ET METABARCODING	47
3.1.1. <i>Eléments d'introduction</i>	47
3.1.1.1. Le sol et les microorganismes : des éléments majeurs à prendre en compte pour la restauration écologique	47
3.1.1.2. Microorganismes du sol, ADN environnemental et métabarcoding	48
3.1.2. <i>Matériel et méthodes en quelques mots</i>	52
3.1.3. <i>Bioinformatique : développement d'un pipeline d'analyse « Bioindic »</i>	52
3.1.4. <i>Vers des indicateurs microbiens de l'état des sols en nouvelle-calédonie : une évaluation du succès de la restauration écologique ?</i>	56
3.1.4.1. Des indices de diversité plus ou moins marqués	56
3.1.4.2. Composition des communautés microbiennes : les ratios, de bons indicateurs de la restauration ?....	57
3.1.4.3. Des communautés microbiennes distinctes.....	61
3.1.4.4. Eléments de discussion et de conclusion	65
3.1.5. <i>Vers un référentiel microbien de l'ultramafisme en Nouvelle-Calédonie</i>	66
3.1.5.1. Une méta-analyse des communautés microbiennes des sols ultramafiques : éléments méthodologiques.....	66
3.1.5.2. Résultats de la méta-analyse	70
3.1.6. <i>Personnel non-permanent et production scientifique</i>	74
3.1.7. <i>Références</i>	74
3.2. FONCTIONNALITE DES ENDOMYCORHIZES	80
3.2.1. <i>Eléments d'introduction</i>	80
3.2.2. <i>Diversité des champignons mycorhiziens à arbuscules</i>	82
3.2.2.1. MATERIELS ET METHODES.....	82
3.2.2.2. Diversité des CMA dans les sols	83
3.2.2.2.1. Données préliminaires.....	83
3.2.2.2.2. Analyse quantitative de la diversité en CMA.....	83
3.2.2.2.3. Aspects qualitatifs de la diversité en CMA	85
3.2.2.3. Conclusion	89

3.2.3.	<i>Influence des champignons mycorhiziens à arbuscules issus des sols restaurés ou de milieux naturels sur la croissance et l'adaptation de la plante</i>	90
3.2.3.1.	Matériels et Méthodes en quelques mots	90
3.2.3.1.1.	Estimation de l'importance des mycorhizes à arbuscules sur le terrain et de la diversité générale des CMA	91
3.2.3.1.2.	Expériences en serre pour évaluer l'efficacité des CMA des milieux restaurés et des milieux de référence étudiés.....	91
3.2.3.2.	Caractérisation de la mycorhization sur terrain	93
3.2.3.2.1.	Densité en spores de CMA.....	93
3.2.3.2.2.	Taux d'endomycorhization	94
3.2.3.2.3.	Diversité générale des CMA dans les racines	95
3.2.3.3.	Expérience en serre avec <i>Sorghum bicolor</i>	96
3.2.3.3.1.	Effets des CMA sur la biomasse végétale.....	96
3.2.3.3.2.	Effets des CMA sur la mycorhization des plantes	98
3.2.3.3.3.	Effets des CMA sur la nutrition minérale des plantes	99
3.2.3.3.4.	Effets des CMA sur les teneurs en métaux lourds dans les plantes	100
3.2.3.4.	Expérience en serre avec <i>Metrosideros laurifolia</i>	101
3.2.3.4.1.	Effets des CMA sur la biomasse végétale.....	101
3.2.3.4.2.	Effets des CMA sur la mycorhization des plantes	103
3.2.3.4.3.	Effets des CMA sur la nutrition minérale des plantes	105
3.2.3.4.4.	Effets des CMA sur les teneurs en métaux lourds dans les plantes	107
3.2.3.4.5.	Effets des CMA sur l'activité microbienne des sols :	110
3.2.4.	<i>Conclusion</i>	111
3.2.5.	<i>Personnel engagé et production scientifique</i>	113
3.2.6.	<i>References</i>	114
3.3.	GENES ET EXPRESSIONS CHEZ LES CHAMPIGNONS ECTOMYCORHIZIENS	118
3.3.1.	<i>Rappel des objectifs</i> :	118
3.3.2.	<i>Evolution de la réflexion et de la stratégie scientifique par rapport aux objectifs présentés dans le projet</i>	118
3.3.3.	<i>Matériel et méthodes</i>	118
3.3.3.1.	Zones d'échantillonnage :	119
3.3.3.2.	Campagne d'échantillonnage de racines d' <i>Acacia spirorbis</i>	119
3.3.3.3.	Extraction, purification et envoi des ARN pour séquençage	120
3.3.4.	<i>Résultats majeurs obtenus</i>	121
3.3.4.1.	Etat des connaissances de la diversité des champignons ECM associés à <i>Acacia spirorbis</i>	121
3.3.4.2.	Caractérisation des potentiels ectomycorhiziens de sols et topsoils pour la restauration écologique d'un site dégradé assisté par le système plante nurse/plante cible.....	123
3.3.4.3.	Essais de terrain de partage des communautés ECM entre la plante nurse <i>A. spirorbis</i> et la plante cible <i>T. guillainii</i>	126
3.3.5.	<i>Conclusion</i>	129
3.3.6.	<i>Personnel non-permanent et production scientifique</i>	130
3.3.7.	<i>Références</i>	131
4.	COMMUNAUTES ET POPULATIONS VEGETALES	132
4.1.	COMMUNAUTES VEGETALES ET ECOLOGIE DES SEMENCES	132
4.1.1.	<i>Eléments d'introduction</i>	132
4.1.2.	<i>Matériel et méthodes</i>	135
4.1.2.1.	Inventaires floristiques en milieux naturels	135
4.1.2.2.	Travaux menés en zones revégétalisées par plantation.....	136
4.1.2.2.1.	Relevés effectués sur les zones revégétalisées	136
4.1.2.2.2.	Evaluation de la banque de graines des zones revégétalisées par plantation	137
4.1.2.3.	Evaluation des progrès de rétablissement des zones revégétalisées par plantations.....	138
4.1.2.3.1.	Le choix de l'écosystème de référence	138
4.1.2.3.2.	Evaluation des progrès de rétablissement des zones revégétalisées par plantation	139
4.1.3.	<i>Eléments de résultats</i>	143

4.1.3.1.	Inventaire botanique en milieux naturels	143
4.1.3.2.	Travaux menés en zones revégétalisées par plantations	146
4.1.3.2.1.	Relevés effectués sur les zones revégétalisées	146
4.1.3.2.2.	Evaluation de la banque de graines du topsoil des zones révegetalisées par plantation	149
4.1.3.3.	Progrès de rétablissement des zones revégétalisées par plantation	151
4.1.3.3.1.	Description par plantation	152
4.1.3.3.2.	Analyse comparative des plantations de l'« ancienne pépinière », A1, A2 et A3 (Figures 59-A1, 59-A2, 59-A3)	155
4.1.3.4.	Analyse entre les plantations de l'« ancienne pépinière » : A1, A2 et A3 et celle de la Kuebini : B (Figure 59)	156
4.1.4.	<i>Eléments de discussion</i>	158
4.1.4.1.	Dynamique des milieux naturels	158
4.1.4.2.	Dynamique des zones revégétalisées	160
4.1.4.2.1.	En lien avec la banque de graines	160
4.1.4.2.2.	Progrès de rétablissement des zones revégétalisées par plantation	161
4.1.5.	<i>Conclusion et perspectives</i>	168
4.1.6.	<i>Personnel non-permanent et production scientifique</i>	174
4.1.7.	<i>Références</i>	175
4.2.	GENETIQUE DES POPULATIONS DE L'ESPECE DE PLANTE MODELE <i>GYMNOSTOMA DEPLANCHEANUM</i>	179
4.2.1.	<i>Eléments d'introduction et objectif de l'étude</i>	179
4.2.1.1.	Eléments d'introduction	179
4.2.1.2.	Objectif de l'étude	181
4.2.2.	<i>Matériel et méthodes en quelques mots</i>	181
4.2.3.	<i>Résultats</i>	185
4.2.3.1.	Observations de terrain	185
4.2.3.1.1.	Environnement à proximité des sites de la zone de l'Ancienne pépinière (A)	185
4.2.3.1.2.	Effectifs en <i>G. deplancheanum</i> plantés et leur croissance	186
4.2.3.1.3.	Phénologie et maturité sexuelle de l'espèce	187
4.2.3.1.4.	Recrutement annuel - Régénération	192
4.2.3.1.5.	Échantillonnage des reproducteurs natifs de la zone de l'Ancienne pépinière (A)	194
4.2.3.2.	Génotypage et analyses génétiques	196
4.2.3.2.1.	Recherche de marqueurs microsatellites	196
4.2.3.2.2.	Choix et tests de variabilité pour les marqueurs identifiés	196
4.2.3.2.3.	Analyse des diversités génétiques et richesses alléliques relevées pour les populations en présence.	197
4.2.3.2.4.	Analyse génétique à partir des données de la zone A (logiciel GenAlEx ; Peakall & Smouse, 2012)	200
4.2.3.2.5.	Analyse de parenté à partir des individus de la zone A admettant un génotype complet pour les neuf locus retenus (logiciel PARFEX ; Sekino & Takechi, 2012)	206
4.2.4.	<i>Personnel non-permanent et production scientifique</i>	217
4.2.5.	<i>Références</i>	217
5.	CONCLUSION GENERALE	218
6.	QUELQUES AUTRES CHIFFRES CLEFS	220

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 : Schéma explicatif sur l'évaluation du statut d'un système restauré et les implications pratiques attenantes.....29
- Figure 2 : Schéma synthétique des différentes approches permettant de caractériser directement et indirectement le fonctionnement des écosystèmes étudiés.36
- Figure 3 : Représentation de la structure organisationnelle du projet par tâches et sous-tâches.37
- Figure 4 : Localisation des sept zones revégétalisées visitées dans la région de Goro. Les trois sélectionnées sont surlignées par un encadré vert : l'Ancienne pépinière, Kuebini et Cofremi, également respectivement dénommées A, B et C.....39
- Figure 5 : Photographies (1) aériennes et (2) au sein des cinq sites revégétalisés sélectionnés localisés sur le plateau de Goro : (A) site A1, (B) site A2, (C) site A3 (les sites A1, A2 et A3 font partie de la zone de l'Ancienne pépinière), (D) site B de Kuebini, (E) site C (plus précisément C2) de Cofrémi.....40
- Figure 6 : Photographies (1) aériennes et (2) au sein des quatre types de végétation de référence. (A) maquis arbustif ouvert sur sol ferralitique cuirassé (parcelle 406), (B) maquis dense sur sol ferralitique cuirassé (parcelle 263), (C) maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* (parcelle 178) et (D) maquis préforestier (parcelle 159).42
- Figure 7 : Localisation des parcelles pour chaque type de formation végétale après réalisation d'un tirage aléatoire sur une grille de 100 x 100m et suite à une vérification sur le terrain.43
- Figure 8 : Stratégie commune d'échantillonnage du sol et protocoles utilisés selon les travaux menés.46
- Figure 9 : Schématisation des différentes étapes implémentées dans le pipeline CNRT Bioindic, réalisé à l'aide du système d'optimisation Snakemake 3.5.5 (Rahmann, 2012). Les détails relatifs au déroulement du pipeline sont relatés dans le corps du texte.54
- Figure 10 : Abondance relative des différents phyla (A) fongiques et (B) bactériens le long de la chronoséquence de référence (OLM, maquis ouvert ; CLM, maquis dense ; TCM.Gd, maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* ; TCM.Fs, maquis paraforestier), ainsi qu'au sein des systèmes revégétalisés (A1, A2 et A3 correspondent aux trois sites de l'ancienne pépinière, B et C, aux sites de Kebini et Cofremi, respectivement). Seuls les phyla ayant une abondance relative > 1.8% sont représentés. Les rapports Ascomycètes:Basidiomycètes et Cyanobactéries:Chloroflexi sont présentés respectivement au-dessus de chaque barre de l'histogramme pour les champignons et les bactéries.....58
- Figure 11 : Abondances relatives des guildes de champignons au sein de la chronoséquence de référence et des sites revégétalisés. OLM, maquis ouvert ; CLM, maquis dense ; TCM.Gd, maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* ; TCM.Fs, maquis

paraforestier. A1, A2 et A3 correspondent aux trois sites de l'ancienne pépinière, B et C, aux sites de Kuebini et Cofremi, respectivement. Le ratio Symbiotique:Saprophyte figure au-dessus de chaque barre.....61

Figure 12 : Représentation NMDS se basant sur l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis entre les communautés (A) fongiques et (B) bactériennes des quatre écosystèmes de références (OLM, maquis ouvert ; CLM, maquis dense ; TCM.Gd, maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* ; TCM.Fs, maquis préforestier) et des cinq sites restaurés (A1, A2, A3 : sites de l'Ancienne pépinière ; B : site de Kuebini ; C : site de Cofrémi) situés sur le plateau de Goro.....62

Figure 13 : Réseaux bipartites réalisés pour (A) les champignons et (B) les bactéries du sol. Les nœuds représentés en couleurs correspondent aux formations végétales (cf. légende ci-dessus) ; leur taille est proportionnelle au nombre de liens (qualifiés d'arêtes), donc ici à la richesse spécifique ; les chiffres figurant à l'intérieur correspondent à la dénomination de la parcelle (cf. section 2.4). Les nœuds figurant en noirs représentent les ASVs. La taille des nœuds est proportionnelle au nombre de connexions des ASVs.....64

Figure 14 : Localisation des cinq sites sur substrats ultramafiques (Goro, Bois du Sud, Rivière Blanche, Kopéto et Tiébaghi) utilisés pour la méta-analyse. Le site de Maré servant de groupe externe est également montré.....67

Figure 15 : Photographies des douze formations végétales de références incluses dans la méta-analyse et classées par site et stade de développement : (A) maquis ouvert (Goro), (B) maquis dense (Goro), (C) maquis paraforestier (Goro), (D) maquis préforestier (Goro), (E) maquis arbustif (Tiébaghi), (F) maquis arbustif développé (Tiébaghi), (G) maquis paraforestier (Tiébaghi), (H) maquis à Cypéracées (Rivière Blanche et Kopéto), (I) maquis à *Tristanopsis spp.* (Rivière Blanche et Kopéto), (J) forêt monodominante à *Arillastrum gummiferum* (Bois du Sud), (K) forêt monodominante à *Nothofagus aequilateralis* (Rivière Blanche et Kopéto), et (L) forêt mixte (Rivière Blanche et Kopéto).69

Figure 16 : Réseaux bipartites réalisés sur les (A) communautés fongiques et (B) bactériennes du sol à partir des 5 sites ultramafiques inclus dans la méta-analyse. Les formations de l'île de Maré ont été incluses en tant que groupe externe. Les nœuds représentés en couleurs correspondent aux formations végétales des différents sites d'étude (cf. légende ci-dessus) ; leur taille est proportionnelle au nombre de liens, ici, à la richesse spécifique. Les nœuds figurant en noirs représentent les ASVs ; la taille de ceux-ci est proportionnelle au nombre de connexions dont ils font l'objet.72

Figure 17 : Phylogénie simplifiée des Champignons Mycorrhiziens à Arbuscules. Cette phylogénie est adaptée de (Redecker et al., 2013) et présente les différents genres, familles et ordres des Glomérormycètes.....81

Figure 18 : ADNr et localisation des amorces utilisées pour amplifier le fragment séquencé dans cette analyse.82

Figure 19 : Nombre de sous-parcelles retenues pour cette étude. Pour chaque formation analysée (MAO : Maquis Arbustif Ouvert, MD : Maquis Dense, MP : Maquis Paraforestier, MPGd : Maquis Paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum*, ZR : Zone Restaurée, A1, A2, A3 correspondent aux sites de l'ancienne pépinière, B et C correspondent aux sites

de Kuebini et Cofremi, respectivement), le nombre de sous-parcelles comprenant des ASVs significativement retenus est indiqué.83

Figure 20 : Richesse moyenne en CMA dans chaque parcelle des différentes formations. Les valeurs moyennes en ASV sont représentées (ASV) ainsi que l'indice de Cha1 (Chao1) pour les formations naturelles (MAO : Maquis Arbustif Ouvert ; MD : Maquis Dense ; MP : Maquis Paraforestier ; MPGd : Maquis Paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum*) ou des zones restaurées (ZR) (A1, A2 et A3 : Ancienne pépinière ; B : Kuebini ; C : Cofremi). n indique le nombre de parcelles prises en compte.84

Figure 21 : Indices de diversité dans les différentes formations analysées. Sur cette figure sont représentées les indices de biodiversité de Shannon, Simpson, l'équitabilité (indice de Pielou) et FD (Faith) sont représentés pour les formations naturelles (MAO : Maquis Arbustif Ouvert ; MD : Maquis Dense ; MP : Maquis Paraforestier ; MPGd : Maquis Paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum*) ou des zones restaurées (ZR) (A1, A2 et A3 : Ancienne pépinière ; B : Kuebini ; C : Cofremi). n indique le nombre de parcelles prises en compte.85

Figure 22 : Phylogénie des Glomeraceae. Arbre phylogénétique obtenu par la méthode du Neighbour-Joining à partir des séquences des ASVs et des séquences de références issues des bases de données. Les séquences des différents ASVs sont représentées sur cette figure. Les clades identifiés (Glomus, Rhizophagus 1 à 4) sont représentés sur la partie droite de la figure.86

Figure 23 : Distribution des différents taxons de CMA dans les sols des parcelles analysées. Le nombre total de taxons détecté pour chaque parcelle est indiqué au-dessus de chaque colonne par la lettre n. Les glomérales sont indiqués en vert, les Diversisporales en bleu, et les groupes les plus basaux dans la phylogénie (Paraglomérales et Archéosporales) sont indiqués en rouge. Les ASVs « Autres » représentent des séquences qui finalement n'appartiennent pas à des séquences de Gloméromycètes.87

Figure 24 : Représentation NMDS se basant sur l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis entre les communautés de CMA des quatre écosystèmes de références (MAO, maquis arbustif ouvert ; MD, maquis dense ; MP : maquis paraforestier ; MPGd, maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum*) et des cinq sites restaurés (ZR) situés sur le plateau de Goro.89

Figure 25 : Dénombrement des spores de CMA dans les sols étudiés prélevés sur terrain (sols peu riches en racines). Les différentes parcelles sont indiquées sur l'axe des abscisses. A1, A2, A3 : sols issus de la parcelle restaurées ; MN lisière : sol issu du maquis naturel en lisière de la zone dégradée ; MN int : sol issu du cœur du maquis de référence proche des parcelles. Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standard. Une PERMANOVA à un facteur a été réalisée. Les lettres a, b et c correspondent au test post-hoc Isd de Fisher. Les barres surmontées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 0,05.93

Figure 26 : Nombre de spores de CMA pour 100g de sol ultramafique restauré ou naturel prélevés sur terrain (sols rhizosphériques).94

Figure 27 : Evaluation de la mycorhization dans les racines prélevées sur le terrain. (A) fréquence de mycorhization moyenne (F %), (B) intensité de mycorhization moyenne (M

%). Les différentes parcelles sont indiquées sur l'axe des abscisses. A1, A2, A3 : sols issus de la parcelles restaurées ; MN lisière : sol issu du maquis naturel en lisière de la zone dégradée ; MN int : sol issu du cœur du maquis de référence proche des parcelles. Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standard. Une PERMANOVA à un facteur a été réalisée. Les lettres a, b et c correspondent au test post-hoc lsd de Fisher. Les barres surmontées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 0,05.94

Figure 28 : Aspect du cortex racinaire mycorhizé dans un échantillon de sol naturel de référence. Les arbuscules sont visibles notamment à gauche de l'image.95

Figure 29 : Diversité taxonomique des CMA dans les racines prélevées sur le terrain. Pour chaque sol de provenance (A1, A2, A3, MN Lisière ou MN Int) les quantités relatives de chaque genre de CMA rencontré sont représentées. Le code couleur représente les différents genres identifiés. A1, A2, A3 : sols issus de la parcelles restaurées ; MN lisière : sol issu du maquis naturel en lisière de la zone dégradée ; MN int : sol issu du cœur du maquis de référence proche des parcelles.95

Figure 30 : Biomasses sèches des plantes (*Sorghum bicolor*), après 170 jours de croissance en serre. Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standard. SRT : sol restauré témoin autoclavé ; SNT : sol naturel témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Une PERMANOVA à un facteur a été réalisée. Les lettres a, b et c correspondent au test post-hoc lsd de Fisher. Les barres surmontées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 0,05.97

Figure 31 : Réponse de la croissance à la mycorhization (MGR) pour les biomasses sèches des plantes (*Sorghum bicolor*). SRT : sol restauré témoin autoclavé ; SNT : sol naturel témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré.98

Figure 32 : Aspect d'un plant pris dans le traitement le plus favorable (SN+spSN), à droite, et d'un plant pris dans un traitement non mycorhizé, peu favorable (SNT-) à gauche.98

Figure 33 : Intensité de mycorhization (%M) et fréquence de mycorhization (%F) pour *Sorghum bicolor*. SRT : sol restauré témoin autoclavé ; SNT : sol naturel témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Une PERMANOVA à un facteur a été réalisée. Les lettres a, b et c correspondent au test post-hoc lsd de Fisher. Les barres surmontées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 0,05.99

Figure 34 : Moyenne des biomasses sèches pour les parties aériennes (histogramme du haut) et racinaires (histogramme du bas) de l'espèce *Metrosideros laurifolia*, après 360 jours de croissance en serre. SNT+ : sol naturel Témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin

autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Une ANOVA à un facteur est réalisée indépendamment pour les parties aériennes et racinaires. Les lettres correspondent au test post-hoc de Kruskal-Wallis. Les modalités avec des lettres différentes présentent une différence significative au seuil de 0,05....102

Figure 35 : Réponse de la croissance à la mycorhization (MGR) pour les parties aériennes et racinaires des plants *Metrosideros laurifolia*, soumis à différents traitements. SNT+ : sol naturel Témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré.....103

Figure 36 : Moyenne des fréquences de mycorhization (A) et des intensités de la mycorhization (B) chez *Metrosideros laurifolia* soumis à différents traitements. SNT+ : sol naturel Témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Une ANOVA à un facteur est réalisée indépendamment pour les parties aériennes et racinaires. Les lettres correspondent au test post-hoc de Kruskal-Wallis. Les modalités avec des lettres différentes présentent une différence significative au seuil de 0,05.104

Figure 37 : Nombre de spores de CMA présentes, en fin d'expérience, dans 100g de sol dans les pots soumis à différents traitements. SNT+ : sol naturel Témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Une ANOVA à un facteur est réalisée indépendamment pour les parties aériennes et racinaires. Les lettres correspondent au test post-hoc de Kruskal-Wallis. Les modalités avec des lettres différentes présentent une différence significative au seuil de 0,05.....105

Figure 38 : Teneurs en potassium et calcium des parties aérienne (en haut) et racinaire (en bas) de *Metrosideros laurifolia*. SNT+ : sol naturel Témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Une ANOVA à un facteur est réalisée indépendamment pour les parties aériennes et racinaires. Les lettres correspondent au test post-hoc de

Kruskal-Wallis. Les modalités avec des lettres différentes présentent une différence significative au seuil de 0,05..... 106

Figure 39 : Moyenne des concentrations en métaux dans les parties aériennes (vers le haut) et racinaires (vers le bas) de *Metrosideros laurifolia* soumis à différents traitements. SNT+ : sol naturel témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Une ANOVA à un facteur est réalisée indépendamment pour les parties aériennes et racinaires. Les lettres correspondent au test post-hoc de Kruskal-Wallis. Les modalités avec des lettres différentes présentent une différence significative au seuil de 0,05. 108

Figure 40 : Facteurs de translocation FT (rapport des teneurs des parties aériennes sur celles des parties racinaires) des métaux Cr, Fe, Ni chez *Metrosideros laurifolia* soumis à différents traitements. SNT+ : sol naturel Témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. 109

Figure 41 : Moyenne des activités phosphatases alcalines des sols dans les pots de *Metrosideros laurifolia* soumis à différents traitements (exprimé en µg de pNPP libéré par gramme de sol sec et par heure). SNT+ : sol naturel témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Une ANOVA à un facteur est réalisée indépendamment pour les parties aériennes et racinaires. Les lettres correspondent au test post-hoc de Kruskal-Wallis. Les modalités avec des lettres différentes présentent une différence significative au seuil de 0,05..... 110

Figure 42 : Abondance relative des OTUs exprimée en pourcentage (%) en fonction des lignées fongiques. 121

Figure 43 : Distribution des lignées fongiques en fonction des trois catégories de sol (A) calcaires, (B) ferrallitiques et (C) volcano-sédimentaires. 122

Figure 44 : Accroissement moyen de la hauteur des plants 14 mois après semis en fonctions des types de sols, (A) des plants d'*A. spirorbis*, (B) des plants d'*Eucalyptus tereticornis*. 124

Figure 45 : Distribution des champignons des différentes modalités basées sur l'espèce hôte, la provenance du sol et les conditions de développement de l'espèce hôte selon la distribution des OTUs des lignées de champignons ectomycorhiziens identifiés. Pour chaque modalité, l'indice de Jackknife caractérisant la richesse spécifique observée

(nombre d'OTUs) est précédé d'un « r » et le nombre de séquences obtenues est représenté par un « n ».....	125
Figure 46 : Distribution taxonomique des champignons ectomycorhiziens associée à <i>T. callobuxus</i> avant la transplantation et 13 mois après la transplantation ; à proximité d' <i>A. spirorbis</i> âgés de 12 ans ; de <i>T. guillainii</i> des formations de maquis naturelles adjacentes. La richesse en espèces estimée à l'aide de l'indice de Jackknife (t) et le nombre de séquences obtenues (n) sont donnés pour chaque communauté.....	127
Figure 47 : Diagramme de Venn montrant le partage des champignons ectomycorhiziens (basé sur des homologues de séquence ITS à 97%) entre <i>A. spirorbis</i> de 12 ans, <i>T. guillainii</i> des formations naturelles adjacentes et les plants de <i>T. callobuxus</i> ; (A) à la transplantation (fin de la pépinière); (B) 13 mois après la plantation à proximité d' <i>A. spirorbis</i> en tant que plante nurse.	128
Figure 48 : Carte des différents milieux naturels de la zone d'étude et des parcelles d'inventaires sélectionnées.	135
Figure 49 : (A) Photo d'un maquis arbustif dense sélectionné comme l'écosystème de référence ; (B) Photo prise <i>in situ</i> mettant en évidence le quadrillage mis en place sur la plantation pour effectuer les relevés (Pierre Loslier_IAC).	139
Figure 50 : Cartographie des plantations (A1, A2, A3 et B) et de leur connectivité avec le paysage environnant illustrée par les zones tampons situées à 20, 40, 80 et 160 mètres du bord des plantations. L'indice I, indiqué dans chaque zone tampon, est retenu dès lors que la surface de végétation naturelle de type dense (MD, MPGd, MP) est équivalente ou supérieure à celle de la plantation.	142
Figure 51 : NMDS ordination bidimensionnelle de la structure de la communauté floristique par formation végétale. Le coefficient de "stress = 0.06279115. L'ordination était basée sur les dissemblances de la matrice de distance. Les ellipsoïdes représentent la limite de confiance d'erreur standard (95%) par formation. Les emplacements des ellipsoïdes dans chaque diagramme indiquent leur degré de similitude (Loslier, 2016).	143
Figure 52 : Diagramme de Venn appliqué à la flore de quatre formations végétales du plateau de Goro : MAO: Maquis arbustif ouvert, MD: Maquis arbustif dense, MPGd: Maquis paraforestier à <i>Gymnostoma deplancheanum</i> et MP: Maquis préforestier (Loslier, 2016).	145
Figure 53 : Enrichissement des plantations avec le nombre d'individus recrûs issus des milieux alentours et le nombre total d'individus recrûs.....	146
Figure 54 : Localisation des semenciers potentiels des nouvelles espèces (Loslier, 2016).	148
Figure 55 : Graphique illustrant la répartition des recrûs des nouvelles espèces sur le site de la Kuebini (Loslier, 2016).....	148
Figure 56 : Densité moyenne au m ² de levées de Cypéracées et de Dicotylédones du topsoil en fonction des zones revégétalisées par plantation.	149

Figure 57 : Diversité spécifique en Cypéracées issue des topsoils en fonction des zones revégétalisées par plantation.....	150
Figure 58 : Diversité spécifique en Dicotylédones des topsoils par zones revégétalisées par plantations.....	150
Figure 59 : Progrès de rétablissement vers un maquis arbustif dense (MD) des zones A1, A2, A3 (19 ans après plantation) et de la zone B (14 ans après plantation) selon le système des 5 étoiles de rétablissement (McDonald <i>et al.</i> , 2016). ¹ Absence d'espèces indésirables (animales ou végétales); ² Absence de menaces anthropiques et ³ Absence de feu. Pour l'attribut : Absence de menaces, si l'indice est proche de 5, c'est qu'il n'y a pas de menaces. ⁴ Espèces communes, ⁵ Espèces barochores, ⁶ Espèces anémochores, ⁷ Espèces zoochores entre chaque plantation et le MD. ⁸ Hauteur moyenne de chaque plantation comparée au MD, ⁹ Nombre d'individus au m ² par classe de taille comparé au MD, ¹⁰ Recouvrement des houppiers des plants plantés, ¹¹ Densité des plants supérieurs à 10 cm de hauteur au m ² et ¹² Densité des plants inférieurs à 10 cm de hauteur au m ² . ¹³ Taux de survie, ¹⁴ Capacité de reproduction des individus plantés et ¹⁵ Capacité de régénération de la plantation. ¹⁶ Connectivités entre habitats, ¹⁷ Flux de dispersion à l'échelle du paysage, ¹⁸ Diversité spécifique apportée à la plantation et ¹⁹ enrichissement de la plantation.....	151
Figure 60 : Illustration d'une restauration de continuités écologiques sous forme de « pas japonais » par l'utilisation de topsoil (en orange) et de plantation avec ou sans topsoil (en vert foncé) et évolution dans le temps pour aboutir à la restauration des connectivités (Illustrations de P. Loslier : A gauche vue de dessus, à droite vue de profil ; Bordez <i>et al.</i> 2018).....	172
Figure 61 : Localisation de la zone d'étude relative aux travaux sur la biologie des populations de <i>Gymnostoma deplancheanum</i> (Casuarinaceae), centrée sur le lieu dénommé « Ancienne pépinière » (zone A). Cette zone est surlignée par un encadré rouge.....	180
Figure 62 : Illustration de la forte capacité de recrutement de <i>Gymnostoma deplancheanum</i> (Casuarinaceae) sur la zone A du site Goro.....	181
Figure 63 : Définition des coordonnées pour les relevés par quadrat au niveau des sites revégétalisés. Pour chaque quadrat, toutes les coordonnées ont été relevées de la même façon. L'identification de l'échantillon est effectuée de la manière suivante : N° « site », « A » (si planté) ou « J » (si juvéniles), n° « rang », n° « ligne » pour les individus plantés, auxquels se rajoutent le n° « portion quadrat », et n° « juvénile dans cette portion de quadrat » ; exemple 1J020371 pour le site A1, juvénile, rang 2, ligne 3 portion de quadrat 7 et n° d'individu 1.	182
Figure 64 : Localisation des sites revégétalisés A1 (encadré jaune), A2 (encadré rouge) et A3 (encadré vert) sur la zone de l'Ancienne pépinière.	185
Figure 65 : Différences entre les tailles des individus sur le site A2 (à gauche) et A1 (à droite).	186
Figure 66 : Distribution des tailles en fonction de leur positionnement sur les rangs pour le site A1.	187

Figure 67 : Relevés par site.	189
Figure 68 : Relation entre la croissance et la maturité sexuelle.	192
Figure 69 : Suivi de régénérations de <i>Gymnostoma deplancheanum</i>	193
Figure 70 : Plantules en lisière (à gauche) ou sous couvert herbacé (à droite) de <i>Gymnostoma deplancheanum</i>	193
Figure 71 : Echantillonnage des natifs sur la zone de l'Ancienne pépinière (A). Un point marque l'emplacement de deux individus proches échantillonnés, un pied femelle et un pied mâle, soit deux individus pour un seul point indiqué.	194
Figure 72 : Fréquences alléliques par locus des plantés sur A (exemples de signatures alléliques). La représentation en courbes a été choisie ici pour mieux visualiser l'ensemble et non pas pour donner une idée de continuité dans les données ce qui serait erroné.	201
Figure 73 : Histogrammes des fréquences alléliques par locus.	202
Figure 74 : Pourcentages de variance exprimés.	205
Figure 75 : Ratios cumulés d'information sur le polymorphisme (PIC) en fonction du nombre de locus pris en compte.	207
Figure 76 : Liens de parenté sur les données retenues.	212

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques initiales des cinq sites de plantations retenues sur le plateau de Goro.....	41
Tableau 2 : Indices de diversité des communautés de champignons et de bactéries du sol calculés pour chaque type de végétation de référence (OLM, maquis ouvert ; CLM, maquis dense ; TCM.Gd, maquis paraforestier à <i>Gymnostoma deplancheanum</i> ; TCM.Fs, maquis paraforestier) et les sites revégétalisés (A1, A2 et A3 correspondent aux trois sites de l'ancienne pépinière, B et C, aux sites de Kebini et Cofremi, respectivement). Le nombre de sous-parcelles retenues est indiqué.....	57
Tableau 3 : Communautés fongiques et bactériennes définies sans a priori sur la base des réseaux bipartites. Les communautés sont numérotées de 1 à 10 (jusqu'à 10 pour les champignons et 8 pour les bactéries). Le nombre de sous-parcelles de 2 x 2 m pour chaque type de système étudié est présenté. Abréviations : OLM, maquis ouvert ; CLM, maquis dense ; TCM.Gd, maquis paraforestier à <i>Gymnostoma deplancheanum</i> ; TCM.Fs, maquis préforestier ; A1, A2, A3 : sites revégétalisés de l'Ancienne pépinière ; B : site revégétalisé de Kuebini ; C : site revégétalisé de Cofrémi).....	63
Tableau 4 : Calcul des indices de restauration écologique CSII _{norm} (« Normalized Community Structure Integrity Index ») et HAI (« Higher Abundance Index ») entre les sites revégétalisés (A1, A2, A3, B et C) et les quatre formations végétales de références (OLM, maquis ouvert ; CLM, maquis dense ; TCM.Gd, maquis paraforestier à <i>Gymnostoma deplancheanum</i> ; TCM.Fs, maquis préforestier).....	66
Tableau 5 : Informations relatives aux cinq sites et douze formations végétales attenantes inclus dans la méta-analyse des communautés microbiennes du sol. Les acronymes utilisés dans cette étude et le nombre de parcelles sont indiqués (les acronymes utilisés dans de précédents travaux ne sont pas présentés). Pour le site de Goro, pour de plus amples informations, se référer aux sections 2 et 4.1).....	68
Tableau 6 : Indices de diversités calculés à l'aide du pipeline d'analyse Bioindic sur les communautés bactériennes et fongiques pour les 5 sites et 12 types de végétations compris dans la méta-analyse. Les résultats relatifs au groupe externe de Maré ne sont pas présentés. (NS : non significatif)	71
Tableau 7 : Traitements mis en place pour l'expérience en serre sur l'influence de la des communautés de CMA sur le développement des plantes.	92
Tableau 8 : Teneurs en éléments essentiels dans les parties aériennes et racinaires, suivies des quantités de ces éléments transférées vers les parties aériennes pour chaque plante. SRT : sol restauré témoin autoclavé ; SNT : sol naturel témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Une PERMANOVA à un facteur a été réalisée. Les lettres a, b et c correspondent au test post-hoc lsd de Fisher. Les barres surmontées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 0,05.	100

Tableau 9 : Concentrations en métaux dans les parties aériennes (A et B) et racinaires (C et D). SRT : sol restauré témoin autoclavé ; SNT : sol naturel témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Une PERMANOVA à un facteur a été réalisée. Les lettres a, b et c correspondent au test post-hoc lsd de Fisher. Les barres surmontées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 0,05.	101
Tableau 10 : Teneurs en K et Ca dans les parties aériennes et quantités de K et Ca par plante, transférées vers les parties aériennes chez <i>Metrosideros laurifolia</i> soumis à différents traitements. SNT+ : sol naturel Témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Une ANOVA à un facteur est réalisée indépendamment pour les parties aériennes et racinaires. Les lettres correspondent au test post-hoc de Kruskal-Wallis. Les modalités avec des lettres différentes présentent une différence significative au seuil de 0,05....	107
Tableau 11 : Nombre d'espèces pour les quatre formations végétales retenues.	143
Tableau 12 : Nombre d'espèces plantées, apparues et totales par plantation.	146
Tableau 13 : Informations générales sur les trois sites revégétalisés (A1, A2 et A3) de la zone A. NB : le site A1 n'a subi aucun traitement <i>a contrario</i> des sites A2 et A3.....	180
Tableau 14 : Répartition en classe de hauteur par site.	186
Tableau 15 : Extrait des relevés observés sur le terrain. L'encadré en gras marque les effectifs concernant les individus de <i>G. deplancheanum</i> plantés.	188
Tableau 16 : Échantillonnage pour la recherche des motifs microsatellites.	196
Tableau 17 : les 9 loci retenus (à l'occasion de ces premiers tests, tous les génotypes obtenus se sont révélés être différents les uns des autres).....	197
Tableau 18 : Effectifs génotypés par genre, stade de maturité et population.	197
Tableau 19 : Liste des allèles par locus toutes populations confondues et richesses alléliques par groupe populationnel étudié.	199
Tableau 20 : Allèles propres aux « non plantés ».	200
Tableau 21 : Équilibre d'Hardy-Weinberg et test du Chi carré (χ^2).	204
Tableau 22 : Indice de différenciation génétique (F_{st}) entre populations.	205
Tableau 23 : Effectifs et résultats généraux de l'étude de parenté.	208

Tableau 24 : Nombre de parents potentiels par juvéniles à partir des données retenues. Les chiffres entre parenthèses se réfèrent au nombre d'individus plantés sur le site. Les chiffres relatifs aux ND (individus indéterminés au niveau du genre) ne sont affichés qu'à titre indicatif.209

Tableau 25 : Reproducteurs retenus pour les juvéniles des trois sites de la zone A. Les chiffres entre parenthèses se réfèrent au nombre d'individus plantés sur le site. Les chiffres relatifs aux ND (individus indéterminés au niveau du genre) ne sont affichés qu'à titre indicatif.211

LISTE DES ENCADRES

Encadré 1 – Création d’une Banque de sols.....	45
Encadré 2 – ADN environnemental et métabarcoding.....	49
Encadré 3 – Séquençage haut débit et technologie Illumina.....	50
Encadré 4 : Le système des cinq étoiles de recouvrement proposé par les standards internationaux de la restauration écologique (SER, McDonald et al., 2016).....	133
Encadré 5 : Les successions végétales de la zone étudiée en chiffres.....	159
Encadré 6 : Les zones revégétalisées en chiffres.....	168
Encadré 7 : Présentation de l’espèce modèle retenue pour l’étude.....	184

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1 – Liste des espèces plantées par plantation (présence : 1, absence : 0) et des formations végétales selon FLORICAL vers. 22.IV.2016 (Morat <i>et al.</i> , 2012 ; Munzinger <i>et al.</i> , 2016) dans lesquelles elles peuvent être rencontrées, ainsi que leur mode de dispersion. F : Forêt dense humide, L : Forêt sclérophylle, M : Maquis, R : Végétation des zones humides, N : Fourrés secondaires et végétation rudérale. A noter que les espèces avec un chiffre 1 en gras sont celles n'ayant pas survécu.....	221
ANNEXE 2 – Cartographie de la végétation de la portion du plateau de Goro étudiée (source : Vale NC).....	223
ANNEXE 3 – Modèle de fiche de terrain à renseigner lors de la collecte des échantillons de sol.....	224
ANNEXE 4 - Liste des espèces issues de l'inventaire botanique classées par ordre alphabétique des espèces, avec leur présence (noté par un 1) en MAO : maquis arbustif ouvert, en MD : maquis arbustif dense, en MPGd : maquis paraforestier à <i>Gymnostoma deplancheanum</i> et MP : maquis préforestier; dont les 37 espèces « candidates » (communes aux quatre formations végétales) à la restauration écologique (surlignées).....	225
ANNEXE 5 - Construction et évaluation des indices de chaque sous-attribut indiquant le progrès de rétablissement des plantations par rapport au maquis arbustif dense (MD). A noter que les éléments des lignes blanches sont utilisés pour avoir les résultats des lignes grises qui les suivent.....	239
ANNEXE 6 - Proportion (%) d'individus par classe de hauteur des espèces ligneuses présentes sur chaque plantation et en maquis arbustif dense (MD, proportion moyenne avec N=30). Même principe que pour l'Annexe 5, les informations des lignes blanches sont utilisées pour obtenir les résultats des lignes grises qui les suivent. (L'indice 1, 2, 3, 4 ou 5 correspond à un pourcentage respectivement compris entre 0 et 5%, 6 et 15%, 16 et 40%, 41 et 80%, et supérieur à 80%).....	243
Annexe 7 - Nombre de recrûs par plantation issus strictement des espèces des milieux environnants (non surlignées) ou pouvant être issus strictement des espèces plantées (surligné en noir) et/ou des espèces des milieux environnants (surligné en gris).....	244
Annexe 8 - Distances minimales entre la plantation et le premier semencier potentiel pour les espèces ayant colonisé chaque plantation et issues du milieu naturel (non plantées). Les espèces surlignées en gris sont endozoochores, celles surlignées en noir sont barochores et celles non surlignées sont anémochores.....	246
Annexe 9 – Tableau des relevés de terrain et géotypage.....	248
Annexe 10 – Tableau de répartition des allèles par locus et par population étudiée.....	257

Annexe 11 – tableau des fréquences alléliques par populations du site A.....	258
Annexe 12 – Tableau des hétérozygoties et indices de fixation.....	264
Annexe 13 – Distribution des individus génotypés par site de la zone de l'Ancienne pépinière (A1, A2 et A3).....	266
Annexe 14 – Descendances avec couple de parents possibles.....	269
Annexe 15 – Résultats des analyses physico-chimiques des sols.....	270

LISTE DES SIGLES & ABREVIATIONS

CNRT	Centre National de Recherche Technologique
IAC	Institut Agronomique néo-Calédonien
CIRAD	Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
IRD	Institut de Recherche pour le Développement
MAO	Maquis arbustif ouvert. Dans certaines figures, l'abréviation OLM pour « Open low maquis » peut apparaître. Les explications sont données dans les légendes correspondantes.
MD	Maquis dense. Dans certaines figures, l'abréviation CLM pour « Closed low maquis » peut apparaître. Les explications sont données dans les légendes correspondantes.
MPGd	Maquis paraforestier à <i>Gymnostoma deplancheanum</i> . Dans certaines figures, l'abréviation TCM.Gd pour « Tall closed maquis dominated by <i>Gymnostoma deplancheanum</i> » peut apparaître. Les explications sont données dans les légendes correspondantes.
MP	Maquis préforestier. Dans certaines figures, l'abréviation TCM.Fs pour « Tall closed maquis with species composition enrichment of forest species » ou « preforest maquis » peut apparaître. Les explications sont données dans les légendes correspondantes.
ZR	Zone restaurée
CMA	Champignons endomycorhiziens à arbuscules
ECM	Ectomycorhizien

1. INTRODUCTION GENERALE

1.1. QUELQUES ELEMENTS DE CONTEXTE

Au cours des deux derniers siècles, la population mondiale humaine a été multipliée par sept, passant de 1 à 7 milliards d'habitants (Nations Unies, 2012). Une telle augmentation démographique a des conséquences directes et indirectes sur notre environnement. En effet, l'impact de l'homme sur notre planète est tel que certains scientifiques commencent à parler de la sixième crise d'extinction majeure (e.g. Barnosky et al., 2011; Wake & Vredenburg, 2008), et désignent même une nouvelle époque géologique, l'anthropocène (e.g. Crutzen, 2002; Steffen et al., 2007). Bien que ceci reste soumis à débat, il n'en est pas moins vrai que les espèces s'éteignent à un rythme supérieur à celui du bruit de fond de l'extinction « naturelle » (MEA, 2004) et que de nombreux milieux, dans des proportions variables, subissent les pressions exercées par les activités anthropiques (<http://sedac.ciesin.columbia.edu/data/collection/wildareas-v2> ; Ellis & Ramankutty, 2008). Ce déclin de la diversité biologique, également appelée biodiversité, a en retour des conséquences potentielles sur les sociétés humaines et leur bien être, que ce soit aux niveaux économique, social, sanitaire et culturel (Couvet & Teyssèdre-Couvet, 2010). Face à ces constats et dans un souci de développement durable, une prise de conscience internationale a émergé sur la nécessité de préserver la biodiversité dans ses différentes composantes, d'enrayer cette perte de biodiversité et de restaurer les écosystèmes dégradés (Couvet & Teyssèdre-Couvet, 2010).

Dans ce contexte global, qu'en est-il de la Nouvelle-Calédonie ? La Nouvelle-Calédonie, de par notamment son isolement géographique et son histoire géologique complexe, présente une biodiversité riche et originale (e.g. Chazeau, 1993; Jaffré et al., 2001; Myers et al., 2000). L'ensemble des menaces qui pèse sur cette diversité biologique, fait de cet archipel une zone prioritaire de conservation (Myers et al., 2000) ; elle n'échappe donc pas à la règle. Cette richesse biologique, et de façon concomitante les pressions anthropiques existantes, résulte en grande partie de la formation au cours des temps géologiques de sols issus de l'altération de roches ultramafiques. Ces sols recouvrent environ un tiers du territoire et se caractérisent en partie par de faibles teneurs en éléments nutritifs (N, P, K et Ca), ainsi que par de fortes concentrations en métaux lourds (Ni, Co, Cr et Mg). La nature intrinsèque des substrats ultramafiques constitue donc un des facteurs ayant favorisé l'évolution des espèces et leur diversification (Pillon et al., 2009). Les teneurs extrêmement élevées en nickel sont également à l'origine d'une exploitation minière ayant débuté il y a plus d'un siècle et qui, dans les prochaines années, risque de fortement s'accroître (L'Huillier & Jaffré, 2010). L'exploitation minière intensive, couplée aux feux dévastateurs, entraîne une forte dégradation de l'environnement terrestre en détruisant et fragmentant les formations végétales, et en mettant à nu les sols.

En Nouvelle-Calédonie, depuis les années 1970, afin de limiter les pollutions engendrées par l'exploitation minière, des moyens techniques de gestion des déchets (stockage des stériles) et des écoulements d'eaux ont été mis en place. En parallèle, des actions de revégétalisation visant à restaurer un couvert végétal, et ainsi limiter l'érosion des sols, ont également été développées. Au cours de ces 40 dernières années, les méthodes et pratiques de revégétalisation ont largement évolué. Ces changements résultent en partie d'une meilleure appréhension des traits d'histoire de vie de certaines espèces de plantes (e.g. dormance des

graines, adaptations particulières), ainsi que de la volonté de développer des actions de restauration écologique, par conséquent de rétablir au niveau d'un système dégradé la structure et le fonctionnement les plus proches d'un écosystème préexistant. Afin d'optimiser les actions de restauration écologique, il apparaît donc primordial de prendre en compte le paysage dans lequel s'inscrit la zone à restaurer (Bell et al., 1997). La dynamique et le rétablissement de fonctions vont en partie dépendre de la structure paysagère dans son ensemble et de la connectivité entre les différentes unités du paysage. La comparaison, à l'aide d'indicateurs biotiques, également appelés indicateurs biologiques ou bioindicateurs, d'un système restauré à des écosystèmes adjacents de référence permet d'évaluer le statut du système et la trajectoire de celui-ci (Banning et al., 2011; Harris, 2003). Il est ainsi possible de déterminer si la zone étudiée présente une trajectoire de « récupération » ou non, et à terme de développer des modèles de prédiction (Banning et al., 2011).

1.2. RESTAURATION ECOLOGIQUE ET MICROFLORE DU SOL

La restauration écologique a pour but de rétablir la structure, la diversité et la dynamique d'écosystèmes dégradés, au regard d'écosystèmes considérés comme « originels » (SER, 2004). Par définition, les écosystèmes sont la résultante de diverses composantes, aussi bien abiotiques que biotiques, et des interactions spatiales et temporelles qui existent entre ces composantes. L'optimisation des pratiques de restauration nécessite donc de mieux appréhender la diversité à différents niveaux (communautés, populations et gènes) et la dynamique de cette diversité au sein d'écosystèmes restaurés et d'écosystèmes définis comme « originels ». Il apparaît donc primordial de s'intéresser à divers types de grands groupes d'organismes, à leurs interrelations et à leurs rôles fonctionnels.

Le sol abrite une très grande diversité de microorganismes, un seul gramme de sol pouvant contenir plusieurs milliers d'espèces (Fierer et al., 2012). Néanmoins, nous ne connaissons qu'une infime partie de leur diversité taxonomique et des fonctions dans lesquelles ils sont impliqués. Pour exemple, d'un point de vue taxonomique, les mycologues s'accordent pour estimer le nombre d'espèces de champignons à la surface du globe à 1,5 million (Hawksworth, 2001), or seulement 100 000 espèces ont été décrites à ce jour (Kirk et al., 2008). Au cours des deux dernières décennies le développement d'outils moléculaires s'intéressant au polymorphisme de l'ADN, a permis de faire un bond en avant dans l'identification et la caractérisation des communautés et des populations des microorganismes (e.g. Carricone et al., 2008; Horton & Bruns, 2001). Très récemment, l'apparition de techniques de séquençage en masse a permis de générer d'énormes jeux de données et de révéler une diversité jusque là insoupçonnée (e.g. Buée et al., 2009). Un nombre croissant de travaux s'intéresse également à l'expression des gènes chez ces organismes, en se focalisant aussi bien sur les communautés que sur des espèces modèles (e.g. Fierer et al., 2012; Majorel et al., 2012). Ces approches permettent de mieux appréhender leurs rôles fonctionnels, notamment dans les interactions sol-plantes-microorganismes. De par les processus connus dans lesquels ils interviennent (e.g. nutrition hydrominérale des plantes et stabilisation des sols) (Smith & Read, 1997), une meilleure caractérisation de leurs diverses fonctions est en effet essentielle.

Les changements environnementaux peuvent entraîner des modifications rapides des communautés microbiennes (Harris, 2009). Cette caractéristique fait des microorganismes un indicateur biologique d'intérêt majeur pour définir l'état des écosystèmes (Harris, 2009). De plus en plus de travaux, comparent des systèmes restaurés à des écosystèmes « naturels »

(e.g. Banning et al., 2011; Harris, 2003). Banning et ses collaborateurs (2011) ont par exemple montré que la dégradation des écosystèmes par l'activité minière altère la composition des communautés microbiennes. Leurs résultats indiquent également pour les bactéries une similarité croissante des communautés par rapport aux écosystèmes de références selon la chronoséquence. Il est ainsi possible d'envisager de mettre en place des modèles de prédiction de la dynamique des communautés microbiennes. L'évolution d'un système restauré va également dépendre de la proximité de formations végétales non dégradées. En effet, la présence de réseaux mycéliens ou de sources d'inoculum pourrait favoriser le recrutement de nouvelles espèces de plantes (e.g. Nara, 2006; Teste & Simard, 2008). Le paysage dans lequel s'inscrit un site dégradé est donc un des principaux éléments à prendre en compte.

En Nouvelle-Calédonie, des travaux se sont intéressés et s'intéressent aux champignons mycorhiziens, *i.e.* formant une association à bénéfices réciproques avec les racines de plantes. En fonction de leurs caractéristiques morphoanatomiques, et des associés fongiques qu'ils impliquent, plusieurs types de mycorhizes sont distingués. Les deux principaux sont les champignons endomycorhiziens et ectomycorhiziens. Ces microorganismes sont connus pour être impliqués, par exemple, dans la nutrition hydrominérale des plantes ou encore la résistance des plantes aux pathogènes (Smith & Read, 1997). Ils interviennent donc dans la productivité et la dynamique des communautés végétales (Smith & Read, 1997). Leurs rôles fonctionnels primordiaux font donc de ces organismes des modèles d'intérêts majeurs. Les travaux menés en Nouvelle-Calédonie suggèrent notamment l'existence d'une forte diversité au sein de formations sur substrats ultramafiques chez ces deux types (Amir & Ducouso, 2010; Carriconde et al., 2019; Gourmelon et al., 2016; Perrier et al., 2006). Néanmoins, ces études sont très récentes et n'ont fait qu'effleurer cette diversité et les processus à l'origine de cette diversité et de sa structure. Des études par une approche de séquençage haut-débit sur les bactéries et les champignons ont été mises en place au travers de différents travaux de recherche inscrits dans le cadre de thèses de doctorats (Bordez, 2015; Demenois, 2017; Gourmelon, 2016). La première étude s'est intéressée tout particulièrement au potentiel microbien des topsoils (*i.e.* sols de surfaces) et à leur gestion, sur le massif du Koniambo situé dans le Nord de la Nouvelle-Calédonie (Bordez, 2015; Bordez et al., 2016). La seconde a été réalisée sur une plus large échelle spatiale (quatre sites localisés sur l'île principale, appelée Grande Terre), et avait pour principal objectif de définir le rôle des microorganismes dans la dynamique des communautés végétales des terrains miniers dans un contexte de mosaïque paysagère (en relation avec les aspects de sources d'inoculum et de dispersion) (Gourmelon, 2016; Gourmelon et al., 2016). La troisième et dernière s'est intéressée aux rôles des traits racinaires et des communautés microbiennes dans la stabilité du sol (Demenois, 2017; Demenois et al., 2020). Toutefois, malgré ces travaux d'envergure, aucun n'a, à ce jour, porté sur des sites restaurés.

1.3. RESTAURATION ECOLOGIQUE ET POPULATIONS VEGETALES

La fragmentation d'un paysage génère une mosaïque d'unités de végétation, assimilables à des communautés végétales, dont la composition et la biomasse varient de proche en proche. Dans le cas extrême d'activités minières cette fragmentation peut aboutir à une alternance entre des secteurs périphériques encore végétalisés jouxtant d'autres secteurs exploités de densité quasiment nulle.

La reconstruction de ces milieux, dans des délais les plus courts possibles, passe nécessairement par l'établissement de « plantations starters », composées d'espèces choisies notamment pour leur caractère pionnier. Elles ont également pour rôle de soutenir des dynamiques évolutives liées à 1) une augmentation de la biomasse végétale, 2) une diversification en espèces recrutées, 3) un maintien, voire une augmentation, de la diversité génétique des espèces présentes. Réels indicateurs, parmi d'autres, d'une dynamique de restauration qui sont aujourd'hui reformulés dans de nouveaux indices synthétiques de résilience et succès de restauration (Jaunatre et al., 2013).

La modification de la composition floristique introduite par plantation est de fait très dépendante de la relation qui lie les capacités de germination et de dispersion de graines et pollen, avec les distances et superficies des sources d'approvisionnement, que sont les aires naturelles non impactées avoisinantes. Ainsi, l'isolement spatial des fragments de milieux préservés ou reconstitués, n'entraîne pas directement et uniformément un isolement fonctionnel en préservant une connectivité écologique (D'Eon et al., 2002; Spaggiari et al., 2010; Taylor et al., 1993; Tischendorf & Fahrig, 2000a, 2000b; With & Crist, 1995). Lorsque cette connectivité est rompue, l'impact de la fragmentation se traduit par une dérive floristique et génétique. Le modèle extrême de cette rupture revient à considérer chaque fragment d'un paysage forestier comme une île dont le fonctionnement est indépendant des autres îles et des massifs attenants (Cantrell et al., 2001; Fahrig, 2003; Lomolino & Weiser, 2001; MacArthur & Wilson, 1967).

La dispersion et la germination des semences apparaissent donc comme des facteurs clés pour la restauration des milieux dégradés. Ils soutiennent à eux deux le renforcement en individus de la biodiversité végétale des sites dégradés. Ils sont également porteurs de diversité du niveau intra-spécifique en compléments des flux de pollen à l'échelle des aires considérées. Les plasticités, dispersive (Augspurger, 1986; Burrows, 1975; Howe & Smallwood, 1982; Thomson et al., 2010) et germinative (Zongo, 2010), des espèces influent sur leur adaptabilité, leur capacité à participer à la recolonisation des ouvertures, et de fait participent à garantir la dynamique des écosystèmes. La dispersion et la germination des graines ont été largement étudiées de par le monde et de grandes tendances ont été identifiées pour chacune d'elle vis-à-vis de leurs contributions propres dans les processus de colonisation végétale (Fenner & Thompson, 2005; Gautier-Hion et al., 1985; Howe & Smallwood, 1982; Zongo, 2010).

L'effet de la fragmentation sur la diversité génétique des espèces, largement étudié dans le monde grâce essentiellement à l'avènement de nouvelles techniques d'investigations moléculaires, est reconnu comme délétère. Récemment, Ortego et ses collaborateurs (2010) ont montré que la fragmentation réduit les flux de gènes de cohortes plus jeunes aux regards des niveaux de diversités constatés chez les individus reproducteurs, générant ainsi une différenciation génétique entre classes d'âges. Toutefois, des modèles prédictifs fiables ne peuvent toujours pas être élaborés du fait du peu de données disponibles à ce jour (Lowe et al., 2005).

La Nouvelle-Calédonie fait partie d'une des régions les plus riches en espèces dans le monde avec, comme corollaire, une concentration exceptionnelle en espèces endémiques, dont certaines sont aujourd'hui menacées (Myers et al., 2000). Parmi elles, les espèces confinées aux substrats ultramafiques, sont particulièrement sensibles aux impacts de la fragmentation forestière et font face à des risques considérables d'extinction. Pourtant, jusqu'à aujourd'hui très peu d'études de génétiques des populations ont vu le jour. De plus, celles-ci ont essentiellement portées sur des problématiques de structuration et/ou de conservation

d'espèces endémiques (Bottin et al., 2005; Caujapé-Castells et al., 2008b, 2008a, 2010; Maggia & Ollivier, 2011). Il en est de même pour celles concernant la dispersion et la germination de semences en lien avec la dynamique des communautés végétales, notamment dans un contexte de sites restaurés. Toutefois en Nouvelle-Calédonie des projets, sans liens avec la dynamique des communautés, ont été conduits sur la germination et la dormance des graines, ainsi que sur la réponse de ces dernières aux stress liés à l'ultramafisme (Fogliani et al., 2004; L'Huillier et al., 2010; Rabier et al., 2008; Wulff et al., 2012; Zongo, 2010) ; comme d'autres ont abordé succinctement les phénomènes de dispersion des semences d'espèces endémiques (Charles-Dominique, 2003; L'Huillier et al., 2010; Wulff et al., 2012; Zongo, 2010). Dernièrement, des projets ont été conduits sur la structuration de la diversité génétique de *Tristaniopsis calobuxus* en fonction des types de substrats fréquentés (projet « Biotop ») et sur *Agathis ovata* dans un contexte de fragmentation du paysage (projet « Corifor »). Une étude sur la dispersion/germination en lien avec la dynamique des maquis miniers sur le massif du Koniambo a également été menée il y a peu (projet IAC, XSTRATA).

1.4. OBJECTIFS DU PROJET

La volonté de travailler avec des espèces endémiques, et de façon croissante avec des espèces présentes localement (L'Huillier et al., 2010), traduit la prise en compte de l'environnement immédiat pour des actions de restauration en Nouvelle-Calédonie. Néanmoins, extrêmement peu d'études sur le Territoire se sont intéressées aux liens potentiels entre la restauration écologique et l'écologie du paysage, en particulier au niveau des terrains miniers. Une telle approche est par conséquent relativement novatrice pour la Nouvelle-Calédonie, mais également au niveau international où très peu de travaux portent sur ce sujet (e.g. Marzluff & Ewing, 2001).

Dans le cadre de ce projet de recherche, nous nous proposons de comparer les diversités génétique, taxonomique et fonctionnelle d'écosystèmes restaurés à celles d'écosystèmes « naturels » adjacents sur substrats ultramafiques. Pour ce faire, divers modèles biologiques, aux niveaux communautés et populations, seront étudiés : les microorganismes du sol (bactéries et champignons) et les végétaux. Il s'agit en fait d'évaluer le statut de la zone restaurée, i.e. de définir si le système présente une diversité et une structure biologique se rapprochant d'écosystèmes de référence (écosystèmes « naturels » juxtaposés) (Banning et al., 2011; Harris, 2003) (Figure 1). Ce statut rend lui-même compte de la dynamique au sein de l'écosystème considéré, par conséquent de son fonctionnement. Cette même dynamique, au niveau microbien ou végétal, va dépendre des communautés initialement présentes sur le site et des communautés avoisinantes pouvant servir de sources d'inoculum et de propagules. Les changements au cours du temps de l'abondance des espèces et de la composition de l'assemblage au niveau spécifique dépendent donc, en grande partie, des capacités de dispersion des espèces et de leur environnement. L'hétérogénéité spatiale au niveau du paysage et la connectivité entre les différentes unités paysagères va en effet influencer sur la dispersion et l'établissement des individus. Ce projet s'attachera donc à développer des indicateurs biologiques traduisant l'état d'un système et son évolution en termes de trajectoires de « récupération » (Figure 1). En ce qui concerne l'optimisation des actions de restauration, les résultats obtenus pourront contribuer à l'établissement des stratégies à adopter dans la mise en place de nouveaux programmes (Bell et al., 1997).

Les principaux objectifs de ce projet de recherche sont donc :

- (i) de caractériser les diversités génétique, taxonomique et fonctionnelle des bactéries, champignons et plantes de zones restaurées et d'écosystèmes « naturels » dans un paysage donné ;
- (ii) de déterminer les processus écologiques à l'origine de la structure observée (e.g. connectivité fonctionnelle) ;
- (iii) et de mettre en place des indicateurs biologiques du statut des écosystèmes restaurés.

Au-delà de ce projet, les indicateurs qui seront développés pourraient servir à évaluer le succès des actions de restauration écologique.

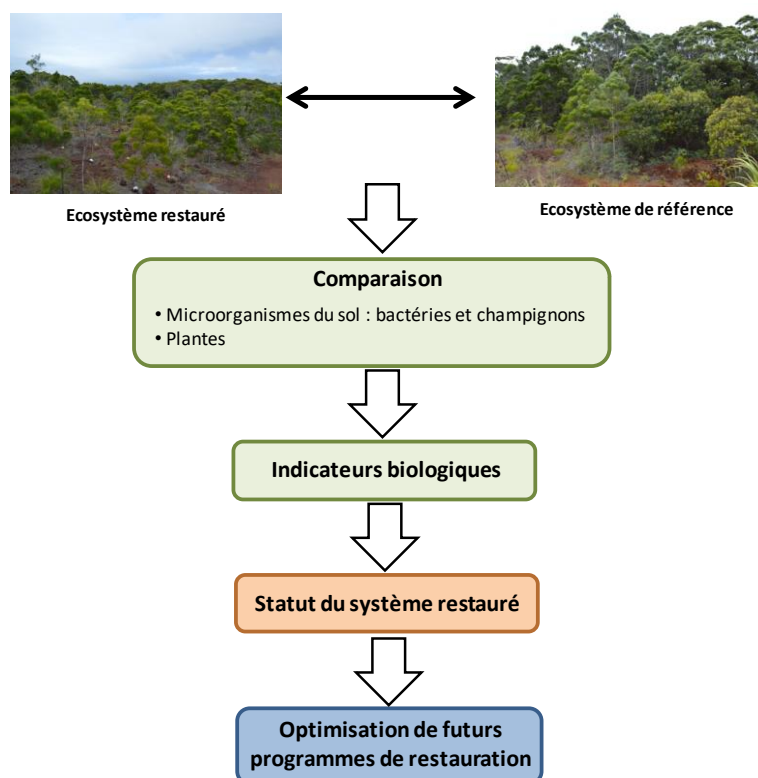


Figure 1 : Schéma explicatif sur l'évaluation du statut d'un système restauré et les implications pratiques attenantes.

1.5. REFERENCES

- Amir, H., Ducouso, M., 2010. Les bactéries et les champignons du sol sur roches ultramafiques, in: Mines et Environnement En Nouvelle-Calédonie : Les Milieux Sur Substrats Ultramafiques et Leur Restauration. Laurent L'Huillier, Tanguy Jaffré, Adrien Wulff, Nouméa, Nouvelle-Calédonie, pp. 129–145.
- Augspurger, C.K., 1986. Morphology and dispersal potential of wind-dispersed diaspores of neotropical trees. *Am. J. Bot.* 73, 353–363. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1986.tb12048.x>
- Banning, N.C., Gleeson, D.B., Grigg, A.H., Grant, C.D., Andersen, G.L., Brodie, E.L., Murphy, D.V., 2011. Soil Microbial Community Successional Patterns during Forest Ecosystem Restoration. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 6158–6164. <https://doi.org/10.1128/AEM.00764-11>
- Barnosky, A.D., Matzke, N., Tomiya, S., Wogan, G.O.U., Swartz, B., Quental, T.B., Marshall, C., McGuire, J.L., Lindsey, E.L., Maguire, K.C., Mersey, B., Ferrer, E.A., 2011. Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature* 471, 51–57. <https://doi.org/10.1038/nature09678>
- Bell, S.S., Fonseca, M.S., Motten, L.B., 1997. Linking Restoration and Landscape Ecology. *Restor. Ecol.* 5, 318–323. <https://doi.org/10.1046/j.1526-100X.1997.00545.x>
- Bordez, L., 2015. Stratégies de revégétalisation des maquis miniers nickélifères de Nouvelle-Calédonie : étude sur les potentiels biologiques des Topsoils en vue de leur utilisation pour la restauration écologique des milieux dégradés. Univ. Nouv.-Caléd. <https://doi.org/10.6098/2015ncal0002>
- Bordez, L., Jourand, P., Ducouso, M., Carriconde, F., Cavaloc, Y., Santini, S., Claverie, J.M., Wantiez, L., Leveau, A., Amir, H., 2016. Distribution patterns of microbial communities in ultramafic landscape: a metagenetic approach highlights the strong relationships between diversity and environmental traits. *Mol. Ecol.* 25, 2258–2272. <https://doi.org/10.1111/mec.13621>
- Bottin, L., Verhaegen, D., Tassin, J., Olivieri, I., Vaillant, A., Bouvet, J.M., 2005. Genetic diversity and population structure of an insular tree, *Santalum austrocaledonicum* in New Caledonian archipelago: SANDALWOOD'S GENETIC DIVERSITY and STRUCTURE. *Mol. Ecol.* 14, 1979–1989. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02576.x>
- Buée, M., Reich, M., Murat, C., Morin, E., Nilsson, R.H., Uroz, S., Martin, F., 2009. 454 Pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New Phytol.* 184, 449–456. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03003.x>
- Burrows, F., 1975. Wind-Borne Seed and Fruit Movement. *New Phytol.* 75, 405–418.
- Cantrell, R.S., Cosner, C., Fagan, W.F., 2001. How Predator Incursions Affect Critical Patch Size: The Role of the Functional Response. *Am. Nat.* 158, 368–375. <https://doi.org/10.1086/321989>
- Carriconde, F., Gardes, M., Bellanger, J.-M., Letellier, K., Gigante, S., Gourmelon, V., Ibanez, T., McCoy, S., Goxe, J., Read, J., Maggia, L., 2019. Host effects in high ectomycorrhizal

diversity tropical rainforests on ultramafic soils in New Caledonia. *Fungal Ecol.* 39, 201–212. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2019.02.006>

Carriconde, F., Gryta, H., Jargeat, P., Mouhamadou, B., Gardes, M., 2008. High sexual reproduction and limited contemporary dispersal in the ectomycorrhizal fungus *Tricholoma scalpturatum* : new insights from population genetics and spatial autocorrelation analysis. *Mol. Ecol.* 17, 4433–4445. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03924.x>

Caujapé-Castells, J., Marrero-Rodríguez, Á., Baccarani-Rosas, M., Cabrera-García, N., Vilches-Navarrete, B., 2008a. Population genetics of the endangered Canarian endemic *Atractylis arbuscula* (Asteraceae): implications for taxonomy and conservation. *Plant Syst. Evol.* 274, 99–109. <https://doi.org/10.1007/s00606-008-0033-z>

Caujapé-Castells, J., Naranjo-Suárez, J., Santana, I., Baccarani-Rosas, M., Cabrera-García, N., Marrero, M., Carqué, E., Mesa, R., 2008b. Population genetic suggestions to offset the extinction ratchet in the endangered Canarian endemic *Atractylis preauxiana* (Asteraceae). *Plant Syst. Evol.* 273, 191–199. <https://doi.org/10.1007/s00606-008-0020-4>

Caujapé-Castells, J., Tye, A., Crawford, D.J., Santos-Guerra, A., Sakai, A., Beaver, K., Lobin, W., Vincent Florens, F.B., Moura, M., Jardim, R., 2010. Conservation of oceanic island floras: Present and future global challenges. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 12, 107–129. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2009.10.001>

Charles-Dominique, P., 2003. Le Rôle de la faune sur la régénération forestière naturelle. *Revue Forestière Française - numéro spécial. ENGREF, Ecole nationale du génie rural, des eaux et des forêts, Nancy, France.*

Chazeau, J., 1993. Research on New Caledonian terrestrial fauna: achievements and prospects. *Biodivers. Lett.* 1, 123–129.

Couvet, D., Teyssèdre-Couvet, A., 2010. *Ecologie et biodiversité*. Belin, Paris.

Crutzen, P.J., 2002. Geology of mankind. *Nature* 415, 23–23. <https://doi.org/10.1038/415023a>

Demenois, J., 2017. Quelle influence des symbioses mycorhiziennes et des traits racinaires sur l'érosion des sols tropicaux ? Application à la restauration écologique des écosystèmes forestiers dégradés de Nouvelle-Calédonie sur Ferralsols développés sur substrats ultramafiques. Université Montpellier, Montpellier, France.

Demenois, J., Merino-Martín, L., Fernandez Nuñez, N., Stokes, A., Carriconde, F., 2020. Do diversity of plants, soil fungi and bacteria influence aggregate stability on ultramafic Ferralsols? A metagenomic approach in a tropical hotspot of biodiversity. *Plant Soil* 448, 213–229.

D'Eon, R.G., Glenn, S.M., Parfitt, I., Fortin, M.-J., 2002. Landscape Connectivity as a Function of Scale and Organism Vagility in a Real Forested Landscape. *Conserv. Ecol.* 6. <https://doi.org/10.5751/ES-00436-060210>

Ellis, E.C., Ramankutty, N., 2008. Putting people in the map: anthropogenic biomes of the world. *Front. Ecol. Environ.* 6, 439–447. <https://doi.org/10.1890/070062>

Fahrig, L., 2003. Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 34, 487–515. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132419>

Fenner, M., Thompson, K., 2005. *The ecology of seeds*, Cambridge university press. ed. New York.

Fierer, N., Leff, J.W., Adams, B.J., Nielsen, U.N., Bates, S.T., Lauber, C.L., Owens, S., Gilbert, J.A., Wall, D.H., Caporaso, J.G., 2012. Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 21390–21395. <https://doi.org/10.1073/pnas.1215210110>

Fogliani, B., Bouraïma-Madjebi, S., Medevielle, V., Pineau, R., 2004. Methods to promote germination of two Cunoniaceae species, *Cunonia macrophylla* and *Geissois pruinosa*, from New Caledonia. *Seed Sci. Technol.* 32, 703–715. <https://doi.org/10.15258/sst.2004.32.3.06>

Gautier-Hion, A., Duplantier, J.-M., Quris, R., Feer, F., Sourd, C., Decoux, J.-P., Dubost, G., Emmons, L., Erard, C., Hecketsweiler, P., Mougazi, A., Roussillon, C., Thiollay, J.-M., 1985. Fruit characters as a basis of fruit choice and seed dispersal in a tropical forest vertebrate community. *Oecologia* 65, 324–337. <https://doi.org/10.1007/BF00378906>

Gourmelon, V., 2016. Formations végétales et diversité microbienne des substrats ultramafiques en Nouvelle-Calédonie, implication pour la conservation et la restauration écologique. Université de la Nouvelle-Calédonie, Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

Gourmelon, V., Maggia, L., Powell, J.R., Gigante, S., Hortal, S., Gueunier, C., Letellier, K., Carriconde, F., 2016. Environmental and geographical factors structure soil microbial diversity in New Caledonian ultramafic substrates: a metagenomic approach. *PloS One* 11, e0167405.

Harris, J., 2009. Soil Microbial Communities and Restoration Ecology: Facilitators or Followers? *Science* 325, 573–574. <https://doi.org/10.1126/science.1172975>

Harris, J.A., 2003. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration. *Eur. J. Soil Sci.* 54, 801–808.

Hawksworth, D.L., 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. *Mycol. Res.* 105, 1422–1432. <https://doi.org/10.1017/S0953756201004725>

Horton, T.R., Bruns, T.D., 2001. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Mol. Ecol.* 10, 1855–1871. <https://doi.org/10.1046/j.0962-1083.2001.01333.x>

Howe, H.F., Smallwood, J., 1982. Ecology of Seed Dispersal. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 13, 201–228. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.13.110182.001221>

Jaffré, T., Morat, P., Rigault, F., Veillon, J.-M., Dagostini, G., 2001. Composition et caractérisation de la flore indigène de Nouvelle-Calédonie. IRD, Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

Jaunatre, R., Buisson, E., Muller, I., Morlon, H., Mesléard, F., Dutoit, T., 2013. New synthetic indicators to assess community resilience and restoration success. *Ecol. Indic.* 29, 468–477. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.01.023>

Kirk, P., Cannon, P., Minter, D., Stalpers, J., 2008. Dictionary of the Fungi. 10th ed. CABI, Wallingford, UK.

L'Huillier, L., Jaffré, T., 2010. L'exploitation des minerais de Nickel en Nouvelle-Calédonie, in: Mines et Environnement En Nouvelle-Calédonie : Les Milieux Sur Substrats Ultramafiques et Leur Restauration. Laurent L'Huillier, Tanguy Jaffré, Adrien Wulff, Nouméa, Nouvelle-Calédonie, pp. 21–31.

L'Huillier, L., Wulff, A., Gâteblé, G., Fogliani, B., Zongo, C., Jaffré, T., 2010. La restauration des sites miniers, in: Mine et Environnement En Nouvelle-Calédonie : Les Milieux Sur Substrats Ultramafiques et Leur Restauration. L'Huillier L, Jaffré T & Wulff A, pp. 147–230.

Lomolino, Weiser, 2001. Towards a more general species-area relationship: diversity on all islands, great and small: Small island effect. J. Biogeogr. 28, 431–445. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2001.00550.x>

Lowe, A.J., Boshier, D., Ward, M., Bacles, C.F.E., Navarro, C., 2005. Genetic resource impacts of habitat loss and degradation; reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. Heredity 95, 255–273. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800725>

MacArthur, R., Wilson, E., 1967. The theory of island biogeography, Princeton University Press. ed. Princeton.

Maggia, L., Ollivier, A., 2011. Diversité génétique et dynamique des populations de *Neocallitropsis pancheri* (Convention de partenariat DENV-IAC-SLN).

Majorel, C., Hannibal, L., Soupe, M.-E., Carriconde, F., Ducousso, M., Lebrun, M., Jourand, P., 2012. Tracking nickel-adaptive biomarkers in *Pisolithus albus* from New Caledonia using a transcriptomic approach. Mol. Ecol. 21, 2208–2223. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05527.x>

Marzluff, J.M., Ewing, K., 2001. Restoration of Fragmented Landscapes for the Conservation of Birds: A General Framework and Specific Recommendations for Urbanizing Landscapes. Restor. Ecol. 9, 280–292. <https://doi.org/10.1046/j.1526-100x.2001.009003280.x>

MEA, 2004. Biodiversity, in: Millenium Ecosystem Assessment.

Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403, 853–858. <https://doi.org/10.1038/35002501>

Nara, K., 2006. Pioneer dwarf willow may facilitate tree succession by providing late colonizers with compatible ectomycorrhizal fungi in a primary successional volcanic desert. New Phytol. 171, 187–198. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01744.x>

Nations Unies, 2012. Division de la Population, World Population Prospects: the 2012 Revision (<http://esa.un.org/unpd/wpp/>).

Ortego, J., Bonal, R., Munoz, A., 2010. Genetic Consequences of Habitat Fragmentation in Long-Lived Tree Species: The Case of the Mediterranean Holm Oak (*Quercus ilex*, L.). J. Hered. 101, 717–726. <https://doi.org/10.1093/jhered/esq081>

Perrier, N., Amir, H., Colin, F., 2006. Occurrence of mycorrhizal symbioses in the metal-rich lateritic soils of the Koniambo Massif, New Caledonia. *Mycorrhiza* 16, 449–458. <https://doi.org/10.1007/s00572-006-0057-6>

Pillon, Y., Munzinger, J., Amir, H., Hopkins, H.C.F., Chase, M.W., 2009. Reticulate evolution on a mosaic of soils: diversification of the New Caledonian endemic genus *Codia* (Cunoniaceae). *Mol. Ecol.* 18, 2263–2275. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04178.x>

Rabier, J., Laffont-Schwob, I., Notonier, R., Fogliani, B., Bouraïma-Madjèbi, S., 2008. Anatomical element localization by EDXS in *Grevillea exul* var. *exul* under nickel stress. *Environ. Pollut.* 156, 1156–1163. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.04.001>

SER, 2004. SER International Primer on Ecological Restoration, version 2. Society for Ecological Sciences and Policy Working Group.

Smith, S.E., Read, D., 1997. *Mycorrhizal Symbiosis*, Academic Press, Amsterdam. ed. Boston.

Spaggiari, J., Ichter, J., Lefeuvre, J.-C., 2010. Mise au point d'une méthode d'identification des continuités écologiques dans le Grand Sud de la Nouvelle-Calédonie. Synthèse bibliographique et proposition d'une démarche. (Rapport final, Conservation internationale (Convention cadre pluriannuelle d'études n° C.347-10)). Nouvelle-Calédonie.

Steffen, W., Crutzen, P.J., McNeill, J.R., 2007. The Anthropocene: Are Humans Now Overwhelming the Great Forces of Nature. *AMBIO J. Hum. Environ.* 36, 614–621. [https://doi.org/10.1579/0044-7447\(2007\)36\[614:TAAHNO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1579/0044-7447(2007)36[614:TAAHNO]2.0.CO;2)

Taylor, P.D., Fahrig, L., Henein, K., Merriam, G., 1993. Connectivity is a vital element of landscape structure. *Oikos* 68, 571–573.

Teste, F.P., Simard, S.W., 2008. Mycorrhizal networks and distance from mature trees alter patterns of competition and facilitation in dry Douglas-fir forests. *Oecologia* 158, 193–203. <https://doi.org/10.1007/s00442-008-1136-5>

Thomson, F.J., Moles, A.T., Auld, T.D., Ramp, D., Ren, S., Kingsford, R.T., 2010. Chasing the unknown: predicting seed dispersal mechanisms from plant traits: Predicting plant dispersal mechanisms. *J. Ecol.* 98, 1310–1318. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01724.x>

Tischendorf, L., Fahrig, L., 2000a. How should we measure landscape connectivity? *Landsc. Ecol.* 15, 633–641.

Tischendorf, L., Fahrig, L., 2000b. On the usage and measurement of landscape connectivity. *Oikos* 90, 7–19. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2000.900102.x>

Wake, D.B., Vredenburg, V.T., 2008. Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105, 11466–11473. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801921105>

With, K.A., Crist, T.O., 1995. Critical Thresholds in Species' Responses to Landscape Structure. *Ecology* 76, 2446–2459.

Wulff, A.S., Turner, S.R., Fogliani, B., L'Huillier, L., 2012. Smoke stimulates germination in two divergent Gondwanan species (*Hibbertia pancheri* and *Scaevola montana*) endemic to the biodiversity hotspot of New Caledonia. *Seed Sci. Res.* 22, 311–316. <https://doi.org/10.1017/S0960258512000141>

Zongo, C., 2010. Données biologiques et physiologiques sur les semences de quelques espèces de milieux ultramafiques neo-calédoniens. Université de la Nouvelle-Calédonie, Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

2. DES MICROORGANISMES AUX PLANTES, DES GENES AUX COMMUNAUTES, UNE APPROCHE COMMUNE

2.1. DOMAINES D'ETUDE ET STRUCTURE EN TACHES

Comme indiqué précédemment, l'idée est de combiner des approches allant de l'écologie des communautés (assemblage des espèces et composition) à l'expression de gènes de fonctions, en passant par la génétique des populations. Deux grands types de modèles biologiques ont ainsi été étudiés : les microorganismes du sol (bactéries et champignons) et les végétaux. Les travaux ont plus précisément porté, de façon complémentaire, sur (voir également Figure 2) :

- L'écologie des communautés des microorganismes du sol et des plantes ;
- L'écologie des semences ;
- La génétique des populations de plantes modèles ;
- Et finalement, l'expression de gènes impliqués dans le fonctionnement des écosystèmes, en se focalisant sur un groupe d'intérêt de champignons associés symbiotiquement aux plantes, les champignons ectomycorhiziens.

A ces analyses de biodiversité est venue se coupler la caractérisation physico-chimique des sols.

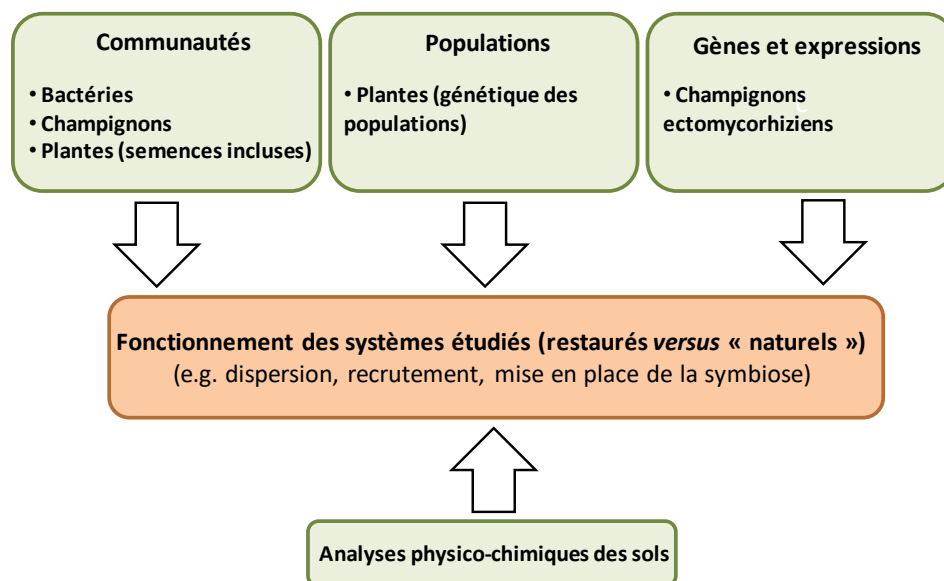


Figure 2 : Schéma synthétique des différentes approches permettant de caractériser directement et indirectement le fonctionnement des écosystèmes étudiés.

Tout en conservant une synergie entre eux, les travaux ont été divisés en trois grandes tâches, la tâche 1 étant en appui aux deux autres, et les tâches 2 et 3 organisées selon les deux grands modèles biologiques d'étude (microflore du sol et végétaux) (Figure 3).

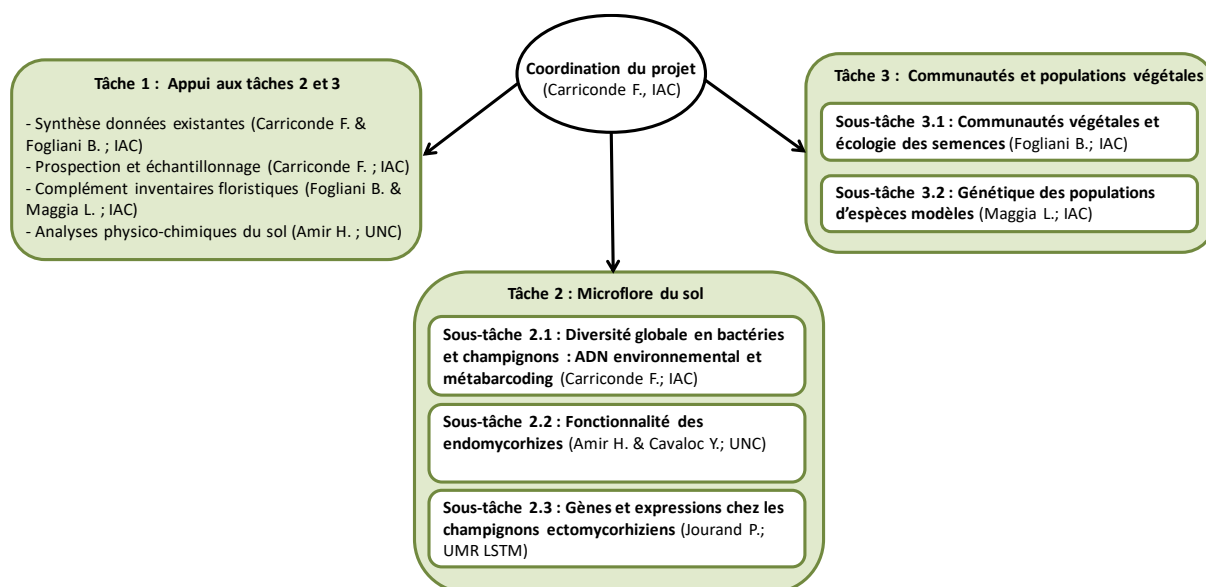


Figure 3 : Représentation de la structure organisationnelle du projet par tâches et sous-tâches.

2.2. SELECTION DES SITES REVEGETALISES

L'étape préliminaire a consisté en la sélection d'une zone d'étude. Ce choix s'est basé sur un ensemble de critères prenant en considération la nécessité de distinguer les « apports externes » (*i.e.* issus des milieux naturels) des « apports internes » (*i.e.* issus des zones revégétalisées elles-mêmes). Le terme « apports » fait ici référence aux propagules végétales *sensu largo*, ainsi qu'aux bactéries et champignons du sol susceptibles de se disperser. Les sites revégétalisés devaient ainsi répondre à ces quatre critères :

- la plantation d'espèces végétales sans apport de topsoil et sans ensemencement par des graines ;
- la présence d'au moins une espèce végétale qui se régénère ;
- l'occurrence d'au moins une espèce de plante ectomycorhizienne,
- et finalement, l'existence d'une certaine correspondance floristique entre les espèces plantées et les espèces présentes dans le milieu naturel environnant.

Sept zones localisées sur le plateau de Goro ont ainsi été visitées (Figure 4) et trois ont été retenues : à savoir celle de l'ancienne pépinière, celle de Kuebini, et celle de Cofremi, respectivement dénommées par la suite A, B et C. Sur la zone de l'ancienne pépinière, trois sites sont à différencier : A1, A2 et A3 (Figure 5). Il s'agit de plantations réalisées en 1997 et mises en place sur différents types de substrats.

La plantation A1 a été réalisée directement sur de la cuirasse sans qu'il n'y ait eu remodelage du sol (*i.e.* sol non préalablement remanié). Pour ce qui est des deux autres, A2 et A3, les plants ont été respectivement disposés sur de la latérite rouge et jaune étalée sur une zone dégradée ne disposant plus de cuirasse. Les trois plantations de l'ancienne pépinière ont été effectuées de la même manière, avec ou sans amendement (Tableau 1), dans le but d'évaluer la croissance de plantes endémiques (3-4 espèces) dans des projets de revégétalisation. Cependant, nous avons considéré ici ces traitements de manière indifférenciée au sein de chacune des plantations estimant que leur effet n'était plus significatif après 20 ans.

La plantation B, également appelée Kuebini, a été réalisée quant à elle en 2002, sur de la latérite rouge issue d'une opération de récupération de cuirasse qui affleurerait, laissant ainsi à nu la latérite. Cette parcelle a été réalisée dans le but de revégétaliser cette ancienne carrière abandonnée par l'utilisation d'un nombre plus important d'espèces végétales endémiques (34 espèces au total).

Pour ce qui est de la plantation C, nommée Cofremi, elle est la plus ancienne, avec une plantation réalisée sur de la latérite jaune en 1988.

Les quatre plantations diffèrent par leur âge, leur type de substrat, leur superficie, leur composition et nombre d'espèces plantées (3 à 34 espèces) (Tableau 1 et Annexe 1). Il est à noter que la densité de plantation est d'environ un plant au mètre carré, quelle que soit la zone considérée.

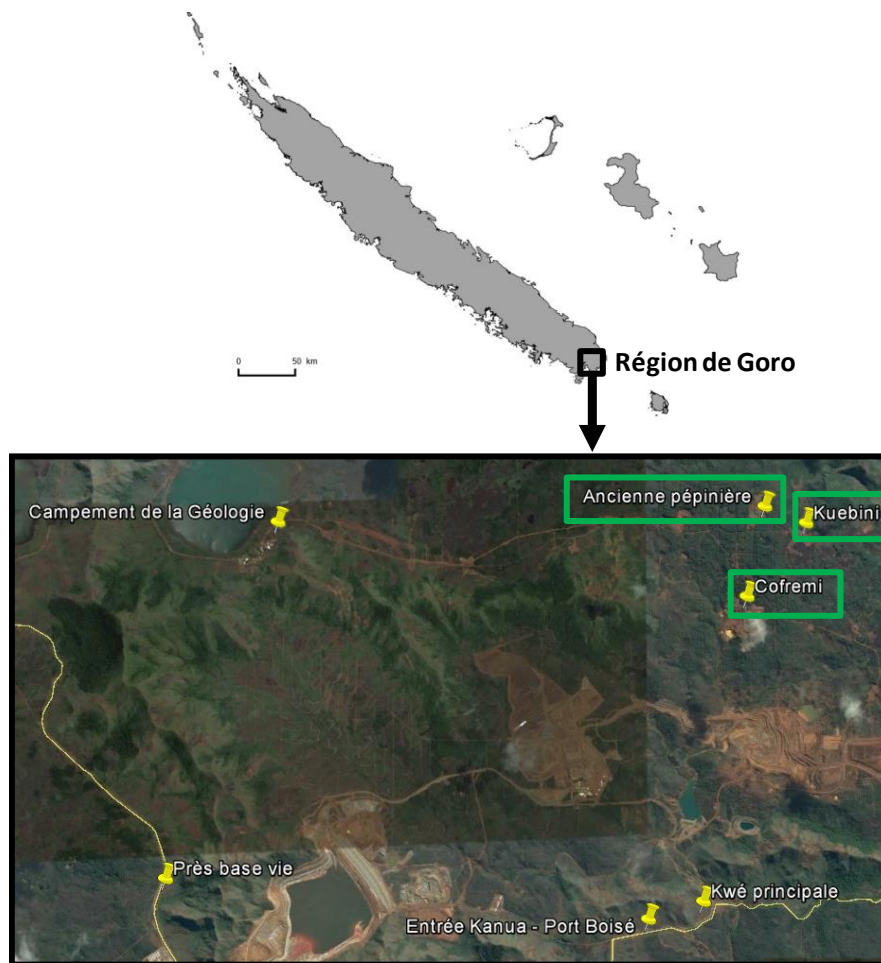


Figure 4 : Localisation des sept zones revégétalisées visitées dans la région de Goro. Les trois sélectionnées sont surlignées par un encadré vert : l'Ancienne pépinière, Kuebini et Cofremi, également respectivement dénommées A, B et C.

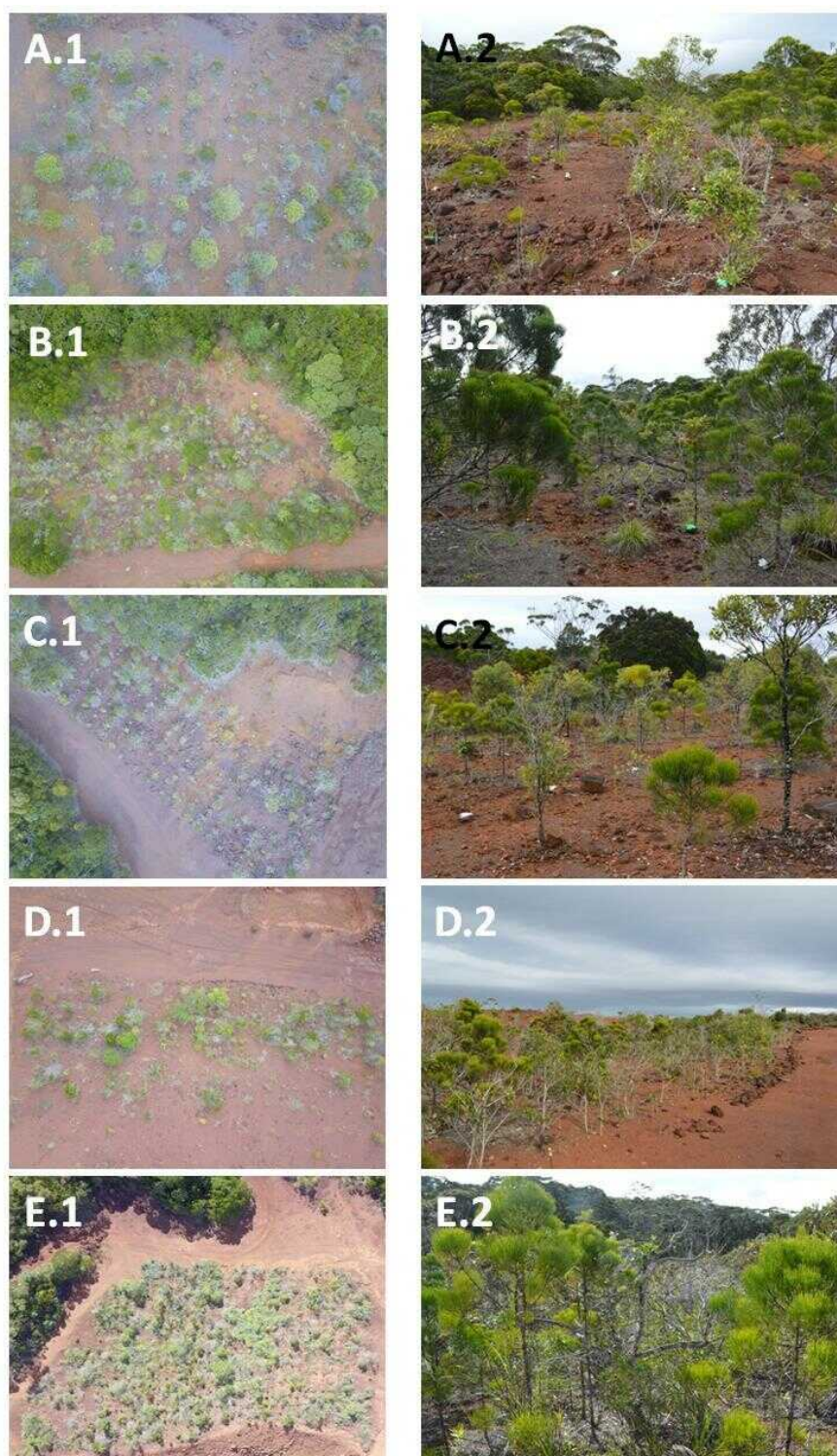


Figure 5 : Photographies (1) aériennes et (2) au sein des cinq sites revégétalisés sélectionnés localisés sur le plateau de Goro : (A) site A1, (B) site A2, (C) site A3 (les sites A1, A2 et A3 font partie de la zone de l'Ancienne pépinière), (D) site B de Kuebini, (E) site C (plus précisément C2) de Cofrémi.

Tableau 1 : Caractéristiques initiales des cinq sites de plantations retenues sur le plateau de Goro.

Zone	Ancienne pépinière			Kuebini	Cofremi
Site	A1	A2	A3	B	C
Date de réalisation	1997	1997	1997	2002	1988
Type de substrat	Cuirasse	Latérite rouge	Latérite jaune	Latérite rouge	Latérite jaune
Travail du sol avant plantation	Aucun	Répartition homogène de latérite rouge à la pelle rétro	Répartition homogène de latérite jaune à la pelle rétro	Carrière de cuirasse abandonnée laissant affleurer la latérite rouge	
Induration	Induré	Meuble	Meuble	Meuble	
Pente	Nulle	Nulle	Nulle	Nulle	Très légère
Erosion	Nulle	Nulle	Nulle	Nulle	Nulle
Altitude (m)	240	240	240	240	241
Superficie de la plantation (m²)	504	1104	600	700	4500
Nb. d'espèces plantées	3	4	4	34	4
Nb. total d'individus plantés	197	370	223	700	N.D.

(N.D. : Non Déterminé).

2.3. FORMATIONS VEGETALES DE REFERENCE : UNE APPROCHE PAR CHRONOSEQUENCE

Sur la base des données floristiques disponibles en milieux naturels (Annexe 2), de la topographie, et de l'accessibilité terrain, un secteur d'étude d'environ 2 x 2 km a été établi autour des trois zones revégétalisées retenues.

A partir de la cartographie de végétation disponible (Annexe 2), quatre formations végétales (Figure 6), largement représentées, et constituant pour chacune d'elles différents états potentiels d'une succession écologique (McCoy et al., 1999), ont été retenues comme références :

- le maquis arbustif ouvert sur sol ferralitique cuirassé (MAO) ;
- le maquis dense sur sol ferralitique cuirassé (MD) ;
- le maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* (MPGd) ;
- et, le maquis préforestier (MP).

Leur assignation à un type de formation, ainsi que leur disposition au sein d'une succession végétale, ont été confirmés par de nouveaux relevés floristiques réalisés dans le cadre de ce projet de recherche (voir section 4.1). On parle de « chronoséquence ».

Les changements de communautés peuvent, en effet, s'effectuer sur de très grands pas de temps (e.g. Cutler et al., 2014; McCoy et al., 1999). En Nouvelle-Calédonie, dans la région de Goro, suite à des perturbations de type feux, McCoy et ses collaborateurs (1999) ont estimé qu'il faudrait 40 à 75 ans pour passer d'un maquis ouvert buissonneux à un maquis fermé (paraforestier), 75 à 100 ans pour être en présence d'une forêt et plus de 250 ans pour qu'une

forêt humide se développe, et ce sans aucune nouvelle perturbation. Afin de palier à cette contrainte de temps, de nombreux travaux mettent ainsi en place des dispositifs qualifiés de « chronoséquences » (e.g. Clemmensen et al., 2015; Gellie et al., 2017), comme nous l'avons fait.

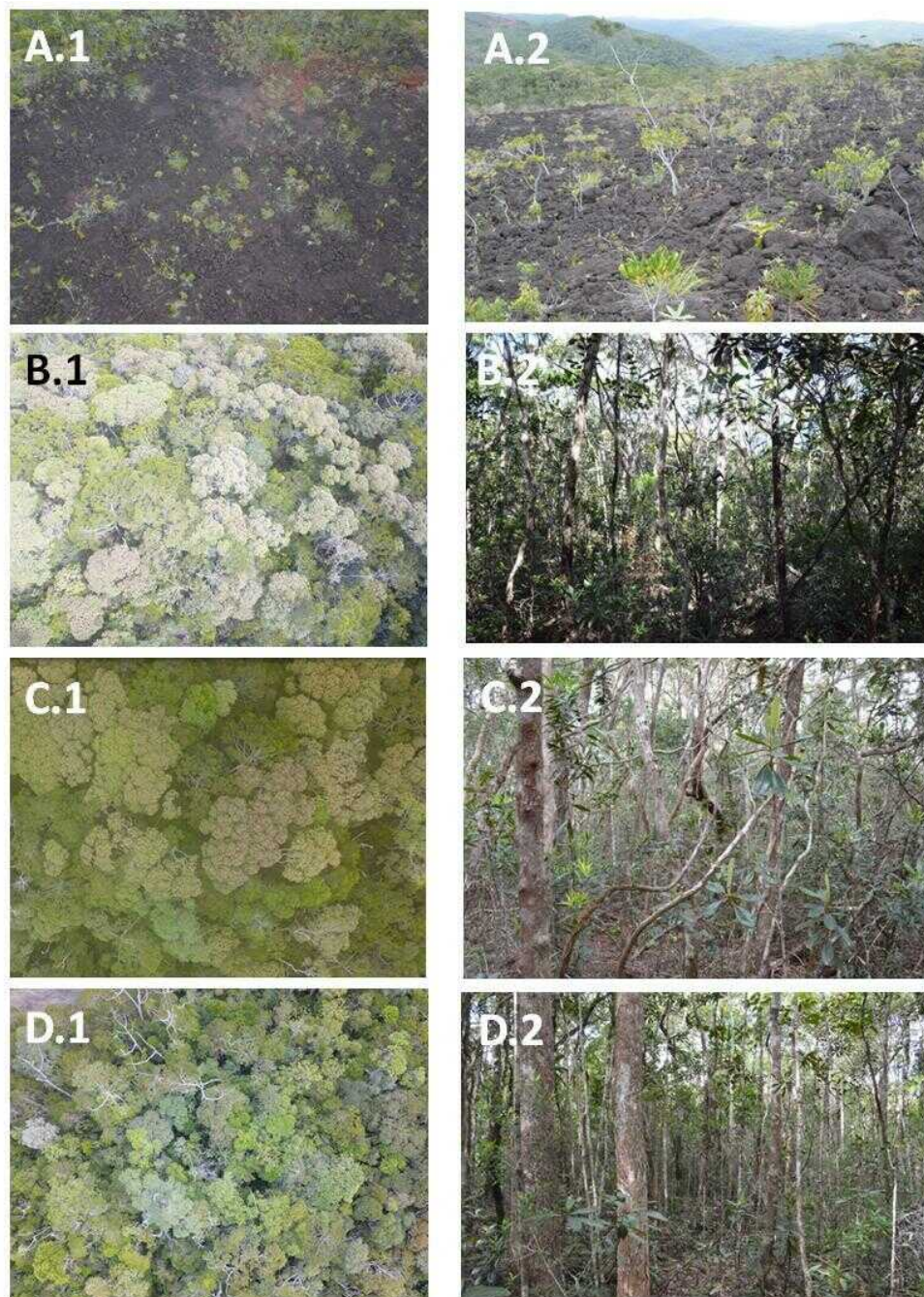


Figure 6 : Photographies (1) aériennes et (2) au sein des quatre types de végétation de référence. (A) maquis arbustif ouvert sur sol ferralitique cuirassé (parcelle 406), (B) maquis dense sur sol ferralitique cuirassé (parcelle 263), (C) maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* (parcelle 178) et (D) maquis préforestier (parcelle 159).

2.4. UNE STRATEGIE COMMUNE D'ECHANTILLONNAGE DU SOL

Dans l'optique d'une approche commune, une stratégie d'échantillonnage conjointe du sol a été menée afin de traiter les différents points listés ci-dessous :

- la diversité globale en champignons et bactéries du sol (sous-tâche 2.1) ;
- la fonctionnalité et la diversité des champignons endomycorhiziens (sous-tâche 2.2) ;
- l'écologie des semences par étude des topsoils (sous-tâche 3.1) ;
- et finalement, la physico-chimie du sol (tâche 1).

Dans les formations végétales de référence : 6 parcelles de 20 x 20 m ont été disposées, soit un total de 24. Le choix des parcelles s'est fait sur la base d'un tirage semi-aléatoire sur une grille de 100 x 100 m (Figure 7). Suite à ce tirage, les coordonnées GPS des parcelles ont été relevées et une validation sur le terrain a été effectuée. Cette validation a consisté en une vérification de l'assignation pour chacune des parcelles au type de végétation lui correspondant (pour plus d'informations se référer à la section 4.1). Dans certains cas, des ajustements terrain ont eu lieu afin d'éviter les zones de chablis et de maximiser les distances aux bordures.

Sur les sites restaurés : sept parcelles de 20 x 20 m ont été tracées, dont deux sur le site A2 (nommées A21 et A22), deux également sur le site C (nommées C1 et C2) et une pour A1 et A3. Pour ce qui est du site B, la parcelle a été positionnée en long afin de ne prendre en compte que la zone de plantation et d'exclure la partie ayant fait l'objet d'un ensemencement par graines. Au total, notre système d'étude comporte 31 parcelles (Figure 7).

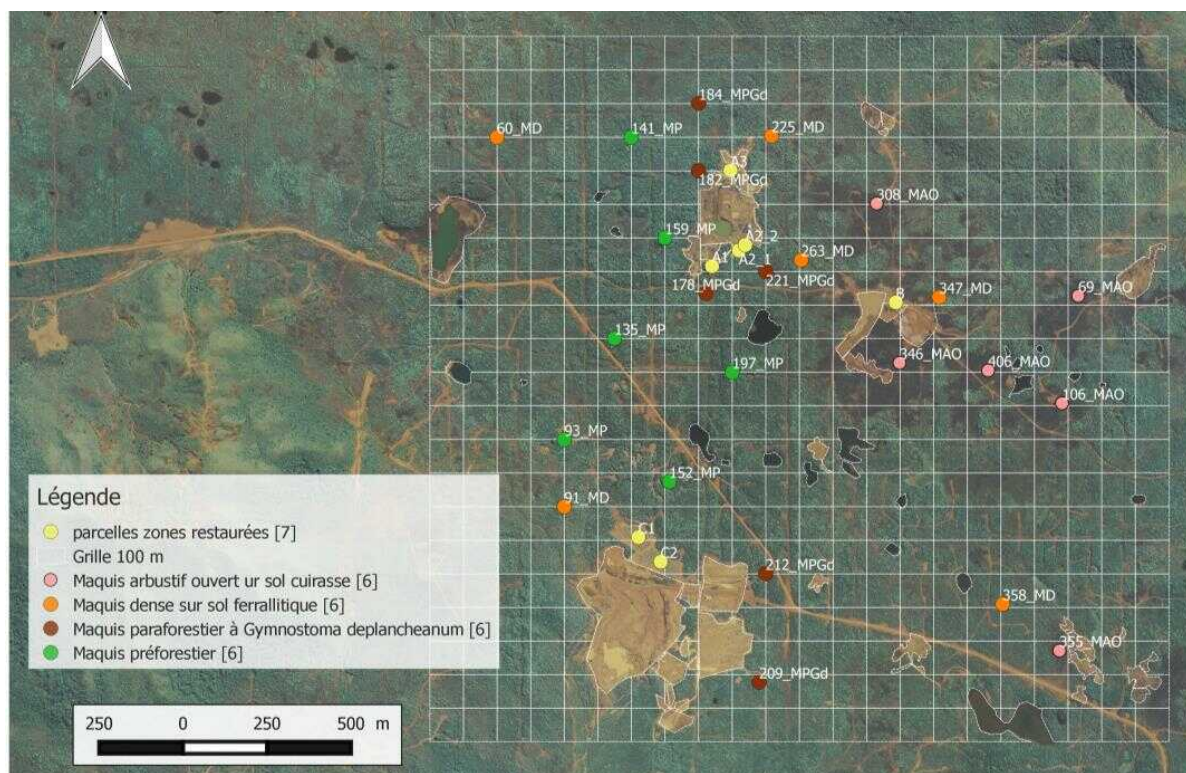


Figure 7 : Localisation des parcelles pour chaque type de formation végétale après réalisation d'un tirage aléatoire sur une grille de 100 x 100m et suite à une vérification sur le terrain.

Au sein de chaque parcelle, quatre sous-parcelles de 2 x 2 m ont été disposées selon le schéma présenté en Figure 8. Dans chacune d'elles, cinq prélèvements de sols de 5 cm de diamètre par 10 cm de profondeur ont été réalisés (aux quatre extrémités et au centre. Pour la diversité globale en bactéries et en champignons (sous-tâche 2.1), la diversité en champignons endomycorhiziens (sous-tâche 2.2), et la physico-chimie du sol (tâche 1), ces cinq échantillons ont été regroupés afin de constituer un échantillon composite de sol. Quatre échantillons composites ont donc été obtenus par parcelle, soit au total 124 échantillons. Chaque échantillon composite a par la suite été traité indépendamment.

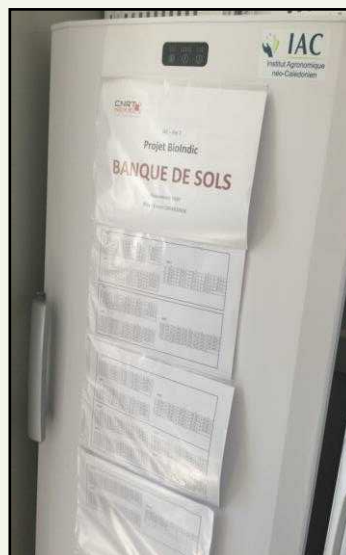
La campagne de prélèvements de sol a été réalisée du 29 février au 4 mars 2016. Une équipe de 9 personnes, impliquant 7 agents de l'IAC et 2 agents de l'UNC, a été mobilisée. Pour chacune des parcelles, une fiche terrain a été renseignée (Annexe 3). Les sols prélevés pour les travaux relatifs à la diversité globale en bactéries et champignons, ainsi qu'en champignons endomycorhiziens, ont été placés immédiatement à 4°C, puis à -20°C dans les 2h à 4h qui suivaient.

Encadré 1 – Création d'une Banque de sols

Grâce au projet Bioindic, une Banque de sols a été créée. Celle-ci a pour objet la conservation d'échantillons sur du long terme, et ce à des fins d'analyses biologiques, tout particulièrement microbiologiques. En effet, depuis ces vingt dernières années, les outils de caractérisation des microorganismes du sol se développent à une vitesse vertigineuse, notamment ceux relatifs au séquençage en masse, avec l'émergence de la première, la deuxième, puis la troisième génération de séquenceur (se référer aux Encadrés 2 et 3).

Ici, l'idée est donc, selon les évolutions technologiques à venir, de pouvoir reprendre un ensemble d'échantillons et de réaliser de nouvelles analyses.

Aux 124 échantillons de sols du projet Bioindic, sont venus s'ajouter ceux d'autres projets, notamment ceux s'inscrivant dans la collaboration de recherche IAC-SLN, impliquant deux thèses de doctorats (Gourmelon, 2016 & Demenois, 2017). Elle comprend ainsi, à ce jour, 229 échantillons.



Pour une bonne gestion, il s'avérera nécessaire de mettre en place une base de données regroupant les diverses informations relatives à l'origine de ces sols (e.g. projet, collecteurs, type de sol) et ce qu'il en a été fait (e.g. analyses de communautés fongiques, analyses physico-chimiques).

Concernant les travaux relatifs à l'écologie des semences (sous-tâche 3.1), l'échantillonnage de la litière et du sol a été effectué uniquement sur les sites revégétalisés. L'échantillonnage a consisté en douze prélèvements de 12 cm de diamètre par 3 cm de profondeur au sein de chacune des 27 sous-parcelles (Figure 8). Le sol a été prélevé les 2 et 3 mars 2016 (voir la section 4.1 pour plus de détails et les résultats obtenus).

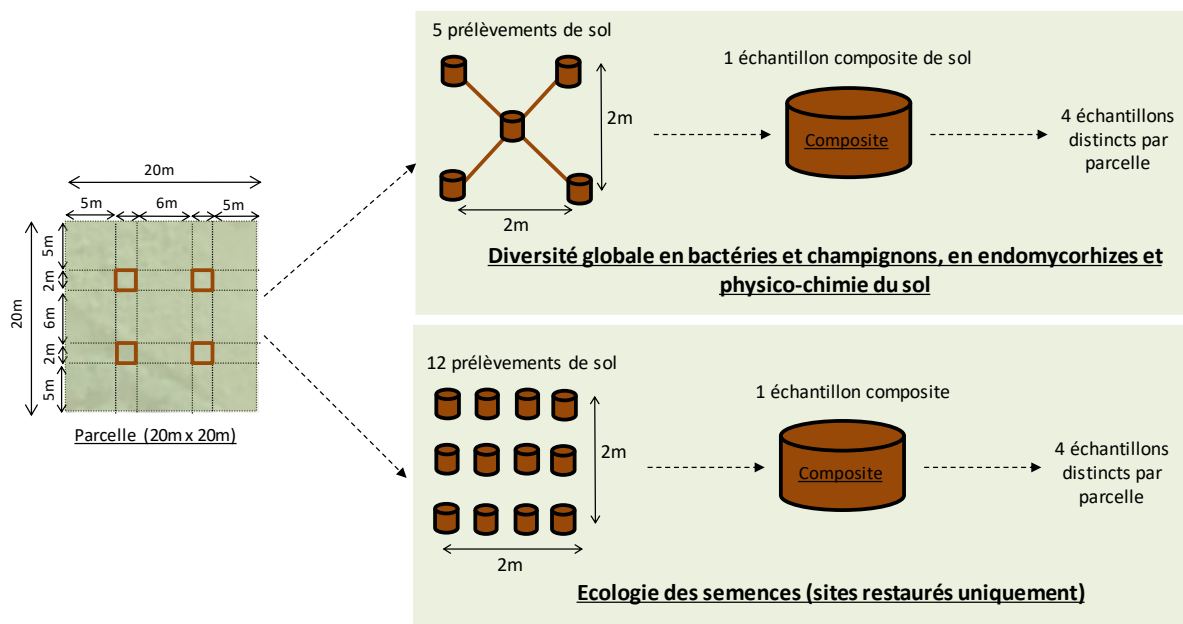


Figure 8 : Stratégie commune d'échantillonnage du sol et protocoles utilisés selon les travaux menés.

2.5. REFERENCES

- Clemmensen, K.E., Finlay, R.D., Dahlberg, A., Stenlid, J., Wardle, D.A., Lindahl, B.D., 2015. Carbon sequestration is related to mycorrhizal fungal community shifts during long-term succession in boreal forests. *New Phytol.* 205, 1525–1536. <https://doi.org/10.1111/nph.13208>
- Cutler, N.A., Chaput, D.L., van der Gast, C.J., 2014. Long-term changes in soil microbial communities during primary succession. *Soil Biol. Biochem.* 69, 359–370. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.11.022>
- Gellie, N.J.C., Mills, J.G., Breed, M.F., Lowe, A.J., 2017. Revegetation rewilds the soil bacterial microbiome of an old field. *Mol. Ecol.* 26, 2895–2904. <https://doi.org/10.1111/mec.14081>
- McCoy, S., Jaffre, T., Rigault, F., Ash, J.E., 1999. Fire and succession in the ultramafic maquis of New Caledonia. *J. Biogeogr.* 26, 579–594. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.1999.00309.x>

3. MICROFLORE DU SOL

3.1. DIVERSITE GLOBALE EN CHAMPIGNONS ET BACTERIES DU SOL : ADN ENVIRONNEMENTAL ET METABARCODING

3.1.1. ELEMENTS D'INTRODUCTION

3.1.1.1. Le sol et les microorganismes : des éléments majeurs à prendre en compte pour la restauration écologique

Le sol a longtemps été considéré comme un simple support, pourvoyeur d'eau et d'éléments minéraux ; c'est pourtant bien plus que cela. Celui-ci rend de nombreux services, qualifiés de services écosystémiques (MEA, 2004). Nous les retrouvons dans des services dits de support (e.g. intervention dans le cycle des nutriments), d'approvisionnement (e.g. production alimentaire pour l'homme et les animaux, production de bois pour la construction ou l'énergie), de régulation (e.g. stockage du carbone), et culturels (e.g. esthétique des paysages, conservatoire de la mémoire et de l'empreinte humaine).

Ces services résultent en grande partie des interactions multiples qui existent entre les organismes présents dans le sol et leur environnement. Pour exemple, les racines des plantes sont connues pour influencer sur les communautés de microorganismes du sol, *via* notamment des interactions mutualistes à bénéfices réciproques (e.g. symbioses mycorhiziennes, et associations entre plantes et bactéries fixatrices d'azote atmosphérique), ou encore en modifiant les conditions de leur environnement. Les champignons et bactéries quant à eux sont grandement impliqués dans la dégradation de la matière organique, la stabilisation du sol, la dynamique des communautés végétales, et dans bien d'autres processus (e.g. Clemmensen et al., 2015; van der Heijden et al., 2008).

Comme spécifié en introduction générale, des conditions environnementales distinctes le long de successions écologiques peuvent se traduire par la présence de différents types de communautés microbiennes dans le sol (e.g. Cutler et al., 2014; Jangid et al., 2013; Knelman et al., 2012; Nemergut et al., 2007; Tarlera et al., 2008). Bien que ces modifications aient été observées sur des chronoséquences mimant des pas de temps relativement longs (e.g. sur des coulées de laves anciennes de 165 à 850 ans sur le Mt Helka en Islande (Cutler et al., 2014), ou suite au retrait d'un glacier, situé sur l'île du Sud en Nouvelle-Zélande, datant de 60 ans à 120 000 ans (Jangid et al., 2013)), Nemergut et ses collaborateurs (2007) ont mis en évidence une évolution des communautés de bactéries sur des temps beaucoup plus courts, une vingtaine d'années. Cette capacité à répondre rapidement aux changements, fait des microorganismes de potentiels bons indicateurs biologiques pour définir l'état des écosystèmes, tout particulièrement pour des écosystèmes ayant été dégradés, ou détruits, et sur lesquels des actions de restauration écologique ont été développées (e.g. Araújo et al., 2014; Bouchez et al., 2016). Malgré cela, très peu de travaux se sont intéressés aux communautés microbiennes du sol, les plantes ayant plus que la part belle (Avis et al., 2017).

3.1.1.2. Microorganismes du sol, ADN environnemental et métabarcoding

Dans leur article de synthèse, Garris et ses collaborateurs (2016) soulignent le rôle primordial que pourrait jouer le séquençage en masse de l'ADN dans le suivi d'actions de restauration. Ces approches de séquençage se font à partir de ce que l'on appelle l'ADN environnemental (ADNe, en abrégé), et reposent sur un ensemble de technologies ayant émergées ces vingt dernières années (se référer aux Encadrés 2 & 3). Ces techniques de métagénomique permettent d'accéder tout particulièrement aux communautés, en d'autres termes à la composition en taxa¹ et leur assemblage.

Le terme métagénomique correspond à l'exploration sans a priori de la diversité microbienne globale d'un environnement par séquençage de l'ADN de tous les génomes présents dans cet environnement. Ici, pour l'étude de la richesse taxonomique d'un environnement et l'analyse différentielle de la structure des communautés microbiennes entre deux échantillons, une approche métagénomique ciblée de séquençage par amplification de fragments spécifiques d'ADNe a été réalisée. On parle alors de « métabarcoding » (Ruppert et al., 2019).

Revenons en premier lieu sur le terme « barcoding ». Le barcoding moléculaire est une technique d'identification taxonomique d'un individu à partir d'une portion de son ADN. Selon le groupe que l'on souhaite étudier, différentes régions génomiques sont approchées, par exemple, le gène mitochondrial Cytochrome Oxidase 1 (cox1) pour les animaux, le gène de Ribulose-1.5-Bisphosphate carboxylase/oxygénase (sous-unité L de la RuBisCo, enzyme clé de la photosynthèse) (RbcL) pour les plantes, la région variable Internal Transcribed Spacer (ITS) pour les champignons, ou encore les régions variables ribosomiques (16S) pour les bactéries.

Le métabarcoding correspond quant à lui à l'étude d'un ensemble de populations dans un échantillon. L'ADNe d'un échantillon est extraite et la région génomique ciblée est amplifiée et séquencée (l'Encadré 3 revient sur les techniques de séquençage en masse, également qualifiées de séquençage haut-débit). L'analyse bioinformatique et statistique des séquences obtenues va rendre compte de la biodiversité, par le calcul de divers indices de diversité (e.g. richesse observée et attendue, indice de Shannon), d'indices de dissimilarité entre les communautés (e.g. indices de Jaccard et Bray-Curtis), et de structure (e.g. PERMANOVA, NMDS). Il sera ainsi possible d'appréhender la biodiversité de n'importe quel type d'échantillon environnemental et de la comparer entre eux.

¹ Ici le terme de « taxa » a été préféré à celui « d'espèce », dans un souci de ne spécifier aucun niveau taxonomique.

Encadré 2 – ADN environnemental et métabarcoding

L'ADN environnemental (ADNe) désigne l'ADN libre que l'on peut retrouver dans un environnement donné (sol, eau, air, peau, estomac, fèces, feuilles, etc.) provenant d'espèces associées à ce milieu. Sa persistance dans l'environnement dépend des conditions du milieu, tels que la présence d'enzymes, l'exposition aux UV, le pH, ou encore la température, et peut varier de quelques jours (eau tempérée) à plusieurs milliers d'années (permafrost).

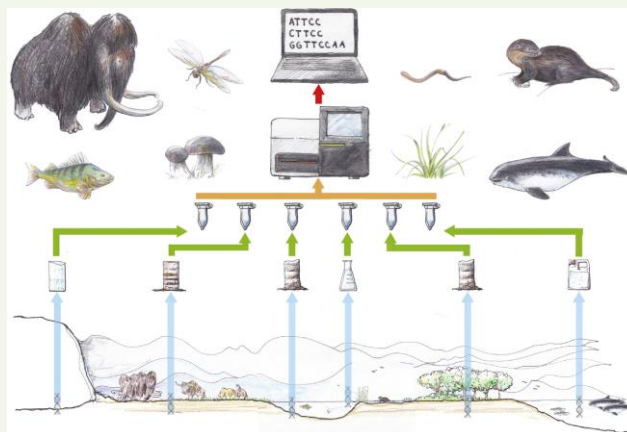


Illustration reprise de Thomsen & Willerslev (2015) sur l'ADN environnemental (eDNA). Celle-ci représente différentes sources possibles (de la gauche vers la droite : glaciers, permafrost/tundra, sédiments aquatiques, lacs, cours d'eau, habitats terrestres et océans), ainsi que différents exemples de modèles d'études potentiels (les champignons, les mammifères, les vers, etc). Les couleurs des flèches indiquent les différentes étapes : la phase d'échantillonnage (en bleu), l'extraction de l'ADN (en vert), l'amplification en masse de la région d'ADN ciblée (en orange), et l'analyse bioinformatique des données (en rouge).

L'identification d'espèces présentes dans des échantillons dont l'ADNe a été extrait est réalisée par une étude de métabarcoding.

Récemment, une étude a combiné pour la première fois restauration écologique et séquençage en masse des microorganismes dans le sol (Gellie et al., 2017). Ce travail a été mené dans le sud de l'Australie sur des systèmes ayant été restaurés à différents temps : il y a 6 ans, 7 ans, 8 ans et 10 ans. Ces derniers ont été comparés à des milieux naturels de référence correspondant à des formations ouvertes à *Eucalyptus*, ainsi qu'à un site dégradé représentant un état dit initial, n'ayant pas fait l'objet de pratiques de restauration. Pour les parcelles âgées de 8 ans, les communautés bactériennes du sol tendent vers celles des milieux de référence. Ce couple microorganismes du sol – nouvelles technologies de séquençage représente donc une alternative indéniable à des approches plus classiques et permettrait de réaliser de façon efficace et standardisée des suivis de programmes de restauration écologique (Gellie et al., 2017).

Sur ce même système d'étude, Yan et ses collaborateurs (2018) se sont focalisés sur un autre groupe de microorganismes ayant une part probante dans le fonctionnement des écosystèmes : les champignons présents dans le sol. Après 10 ans, les communautés fongiques montrent une trajectoire allant vers les formations à *Eucalyptus*.

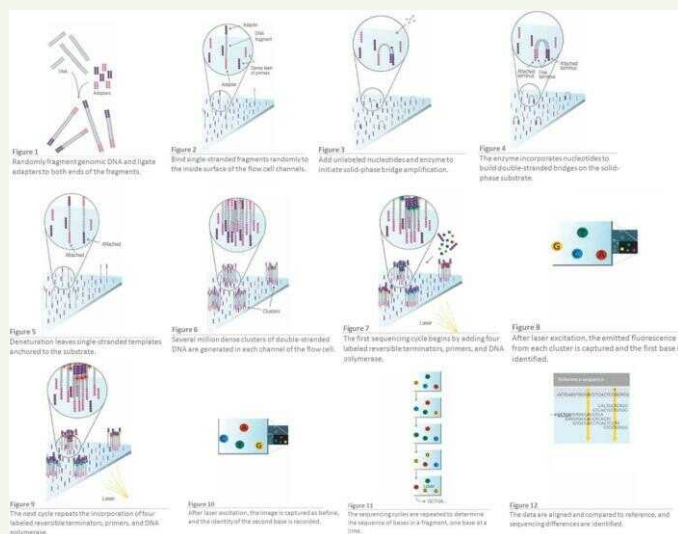
Encore plus récemment, dans le sud-ouest Brésilien, suivant la même méthode, une forte similarité a été observée entre communautés d'archées, de bactéries et de virus issues de sites qualifiés de réhabilités (âgés de 2 à 6 ans), après exploitation du minerai de Fer à ciel ouvert, et des sites choisis comme références (Gastauer et al., 2019). Ces résultats confirment la place prépondérante que pourraient avoir les communautés microbiennes du sol en tant que bioindicateurs du devenir des zones restaurées. Dans le cadre de la restauration, comme nous venons de le voir, seules trois études ont été menées dans le monde (Gastauer et al., 2019; Gellie et al., 2017; Yan et al., 2018), et aucune sur substrats ultramafiques.

Encadré 3 – Séquençage haut débit et technologie Illumina

→ **Séquençage à haut-débit** : la première génération de séquenceurs était basée sur la méthode Sanger, automatisée et mise en parallèle à l'aide de capillaires (jusqu'à 96 capillaires). Le séquençage de seconde génération, également appelé séquençage nouvelle génération, Next Generation Sequencing en anglais (NGS), ou encore séquençage à haut-débit, a vu le jour en 1993 avec le développement de la technologie de pyroséquençage et sa commercialisation en 2005 par la société 454 Life Sciences. D'autres méthodes de séquençage en parallèle massif (Massive Parallel Sequencing) ont dès 2006 été développées, entre autres par Solexa, fondée en 1998 à Cambridge et détenue par Illumina depuis 2005 (voir illustration ci-après), ou encore par Life Technologies avec le séquençage SOLiD et Ion Torrent.

Toutes ces méthodes ont en commun une étape d'amplification préalable facilitant la détection d'un signal (qui peut être de différentes natures, telles que des photons, des protons ou des électrons). On est ainsi passé de 96 lectures en parallèle (séquenceur capillaire Sanger) à plusieurs milliards de lectures simultanées lors d'un seul et même « run ». Cette augmentation croissante de cette capacité de séquençage a fortement réduit les coûts, allant par le passé de 10.000 dollars US à de nos jours moins de 10 centimes la Mégabase (Mb), sans parler des gains de temps.

Plus récemment, le séquençage de 3ème génération, également appelé séquençage direct, a vu le jour. Il permet la lecture directe des brins d'ADN ou d'ARN, sans étape d'amplification préalable (Oxford Nanopore Technologie, Pacific Biosciences).



Schématisation du procédé sur lequel repose la technologie Illumina. Le projet CNRT Bioindic s'est basé sur le système Illumina MiSeq et le séquençage a été réalisé sur le Grand plateau technique régional de génotypage de l'UMR Agap (Cirad).

→ **Le cas d'Illumina** : actuellement la grande majorité des données de séquençage en masse est générée à l'aide de la technologie proposée par Illumina (voir illustration ci-dessus). La société Illumina propose en effet une gamme de séquenceurs répondant à différents besoins. Cette polyvalence est permise par la méthode de construction des bibliothèques, la méthode de séquençage et le format des données générées, qui restent identiques d'un instrument à l'autre, indépendamment du débit. On peut trouver des séquenceurs dits de paillasse (« benchtop sequencer »), produisant de 1 à 120 Gb, et des séquenceurs dits de production, produisant de 1500 à 6000 Gb. Ces derniers nécessitent un investissement conséquent, les réservant aux grands centres de recherche génomiques ou à des sociétés privées.

Les besoins de production d'un projet sont notamment définis par le nombre total d'échantillons, le pourcentage de couverture et la profondeur de séquençage par échantillon souhaitée, au regard des technologies disponibles. A titre d'exemple, le présent projet CNRT Bioindic avec ses 124 échantillons, des lectures paired-end (*i.e.* sens et anti-sens), une profondeur de séquençage estimée à 100.000 lectures par échantillon, soit environ 25 millions de lectures « appariées » pour une production totale de 12,5 Gigabases (Gb) pour chaque marqueur, s'est orienté vers le système Illumina MiSeq. Un séquenceur à plus petit débit aurait nécessité plus de « runs » et aurait par conséquent généré un coût par Gb plus élevé. A l'inverse, un séquenceur à débit plus important aurait permis de baisser le coût par Gb, mais un « run » unique se serait avéré plus coûteux, avec très certainement une surproduction de lectures.

Un autre élément essentiel à prendre en compte est, pour ces nouvelles technologies, la nécessité de développer de nouveaux outils bioinformatiques afin de traiter le très grand nombre de données générées (pour de plus amples informations, se référer à la section 3.1.3).

3.1.2. MATERIEL ET METHODES EN QUELQUES MOTS

A partir des échantillons de sol, l'ADN total en est extrait (voir section 2.4). L'idée est d'en extraire la plus grande quantité possible et de la meilleure qualité qu'il soit (*i.e.* non dégradé). Afin de préserver au mieux l'ADN, les échantillons de sol ont été disposés dans des Falcon 50 ml et conservés à -20°C dans des délais les plus brefs (voir Encadré 1). Ils ont ensuite été lyophilisés à basse température (-51°C) pendant 24h (FreeZone Freeze Dry System, Labconco Corporation, Kansas City, MO, USA). Un gramme de sol a été extrait à l'aide du kit PowerSoil DNA isolation (Mo Bio laboratories, Carlsbad, CA, USA), en suivant les recommandations du fournisseur. S'en sont suivies une quantification et une vérification de la qualité de l'ADN à l'aide d'un Nanodrop™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) et une migration sur gel d'agarose à 1%.

La suite des manipulations se base sur le principe de l'amplification de l'ADN par polymérisation en chaîne (Polymerase Chain Reaction, PCR, en anglais) (voir également l'Encadré 3). Dans le mélange d'ADNe, les communautés fongiques et bactériennes ont été ciblées en se focalisant sur des régions définies à l'aide d'amorces spécifiques d'un des groupes d'organismes (pour au moins l'une des deux amorces). Pour les champignons il s'agit de la région ITS2, amplifiée à l'aide du couple d'amorces 18S-Fwd-ITS7 (5'-GTGARTCATCGAATCTTTG-3') (Ihrmark et al., 2012) et (18S-Rev-ITS4 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al., 1990). En ce qui concerne les bactéries, la région V4 a été amplifiée grâce aux amorces 16S-Fwd-515 (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') et 16S-Rev-806 (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') (Caporaso et al., 2011). Les oligonucléotides utilisés sont identiques à ceux employés par Gourmelon et al. (2016) et Demenois et al. (2020). Nous constaterons par la suite (voir section 3.1.5), l'intérêt d'utiliser des mêmes amorces pour différents projets de recherche connexes.

Les librairies ainsi que le séquençage ont été réalisés au sein du Grand plateau technique régional de génotypage de l'UMR AGAP (Cirad – Inra – Montpellier SupAgro) (<http://www.gptr-lrgenotypage.com/index.html>). Sans rentrer dans le détail, deux librairies correspondant à deux répliquats techniques, ont été préparées indépendamment pour chacune des communautés microbiennes. Ces deux répliquats ont par la suite été fusionnés (voir section 3.1.3). Pour chacune des librairies, un contrôle négatif a également été inclus. Ce contrôle consistait, en remplacement de la suspension d'extrait d'ADN, en un ajout d'eau pure lors de la réalisation des PCRs.

Les librairies ont été séquencées sur le système MiSeq d'Illumina (San Diego, Californie, États-Unis) (voir l'Encadré 3 pour de plus amples informations sur le choix du séquenceur). Au total, environ 37 millions de lectures « appariées » (*i.e.* séquencées dans les deux sens), soit 74 millions de lectures en tout, d'une longueur de 250 pb ont été obtenues pour les champignons et les bactéries.

3.1.3. BIOINFORMATIQUE : DEVELOPPEMENT D'UN PIPELINE D'ANALYSE « BIOINDIC »

Un pipeline d'analyse correspond à un ensemble de logiciels exécutés en série de telle façon que la sortie d'un logiciel sert d'entrée au suivant. Le pipeline peut être automatisé, permettant ainsi la reproductibilité des résultats et l'analyse de nouveaux jeux de données avec les

mêmes paramètres. Ceci permet, de façon non-négligeable, la traçabilité de ce qui a été entrepris. Un pipeline d'analyse part généralement de données brutes (ici, des fichiers nommés FASTQ), possède une ou plusieurs étapes de nettoyage des données (on parle de filtres), ainsi que de calculs de métriques et d'analyses statistiques.

Différents pipelines sont à l'heure actuelle disponibles, tels que MOTHUR ou QIIME (Caporaso et al., 2010; Schloss et al., 2009). Comme l'indique Garris et ses collaborateurs (2016), ces derniers peuvent être adaptés aux questions posées et être utilisés afin de mettre en place des procédures rapides d'évaluation de bioindicateurs. C'est dans cette logique que nous avons développé un pipeline d'analyse dédié au projet CNRT Bioindic, faisant appel à différents outils implémentés dans QIIME 2 2018.6.0, ainsi qu'à d'autres éléments. Celui-ci est rendu libre d'accès à l'adresse suivante : https://gitlab.com/IAC_SolVeg/CNRT_BIOINDIC.

Ce pipeline a été utilisé pour traiter les données des communautés fongiques et bactériennes, ainsi que les données plus ciblées sur les champignons endomycorhiziens (se référer à la sous-tâche 2.2 et à la section 3.2). Les différentes étapes du pipeline d'analyse sont détaillées ci-après et synthétisées en Figure 9, et peuvent être regroupées en quatre grandes étapes :

- Etape 1 : analyse de la qualité des séquences ;
- Etape 2 : regroupement des séquences en ASVs ;
- Etape 3 : calcul d'indices de diversité et de dissimilarité ;
- Etape 4 : assignations taxonomiques.

Etape 1, analyse de la qualité des séquences : le séquençage en masse, comme nous avons pu le voir, génère d'immenses quantités de données, ici pas moins de 74 millions de séquences, appelées « lectures », (« reads » en anglais). Néanmoins, cette abondance d'information ne doit pas se faire au détriment de la qualité (Faure & Joly, 2016). En effet, ces nouvelles technologies ne sont pas exemptes d'erreurs de lecture et les adaptateurs qui peuvent être utilisés lors du processus de séquençage doivent être retirés. Avant de poursuivre plus en détail, nous tenons à signaler que l'étape préalable au traitement a consisté en un rassemblement des deux réplicats techniques (les deux librairies) pour chaque échantillon, ceci afin d'augmenter la profondeur de couverture, en d'autres termes afin d'obtenir un plus grand nombre de séquences par échantillon.

Revenons-en au traitement des données. L'outil cutadapt 1.18 (Martin, 2011) a permis de retirer les portions correspondant aux adaptateurs parfois présents en fin de lecture (en position 3'). Les séquences de trop faibles qualités (phred score inférieur à Q30) ont été tronquées et celles trop courtes (< 150 nt), pour permettre la fusion des deux lectures (sens et anti-sens), ont été retirées grâce à Sickel 1.33 (Joshi & Fass, 2011). Les lectures « appariées » se chevauchant sur 50 nt ont ensuite été fusionnées pour donner une nouvelle séquence consensus (on parle aussi de contig), et ce à l'aide de fastq-join 1.3.1 (Aronesty, 2011). A cette étape, les séquences « non-appariées » ont été retirées pour la suite des analyses. Les outils fastqc 0.11.8 (Andrews, 2010) et multiqc 1.6 (Ewels et al., 2016) se sont ensuite attelés à la vérification de la qualité des séquences ainsi traitées.

Ces étapes accomplies, le pipeline a fait appel à différents modules disponibles dans QIIME 2 2018.6.0.

Etape 2, regroupement des séquences en ASVs : l'approche la plus communément utilisée est la définition d'unités taxonomiques opérationnelles, nommées OTUs (« Operational Taxonomic Unit », en anglais), ou dans certains cas MOTUs afin de mettre en avant l'aspect moléculaire (« Molecular Operational Taxonomic Unit »). Ces OTUs reposent sur l'établissement d'un seuil d'homologie de séquence, le plus souvent de 97%, choisi comme

représentant la limite en-deçà de laquelle deux séquences appartiendront à deux OTUs distinctes, représentant ce que l'on pourrait qualifier, par aisance linguistique, des « espèces moléculaires » distinctes. Cette valeur de 97%, bien qu'arbitraire, constitue la variabilité intra-spécifique communément admise au sein des espèces, bien que l'on sache que cette valeur peut changer selon le genre. Une telle variation permet également de prendre en compte les erreurs de séquençage (Nearing et al., 2018).

Récemment, de nouvelles approches de correction ont vu le jour, et génèrent des « Amplicon Sequence Variants » (ASVs) ; une seule variation nucléotidique se traduisant par un nouvel ASV. En comparaison aux OTUs, ceux-ci présentent divers avantages, tout particulièrement la possibilité de comparer des jeux de données issus de différents travaux de recherche et de disposer de temps de calculs beaucoup plus courts (Callahan et al., 2017). Le pipeline Bioindic fait appel à l'outil DADA2 (Callahan et al., 2016) de QIIME 2, qui en plus d'éliminer les chimères et les singletons, génère une table de comptage des ASVs.

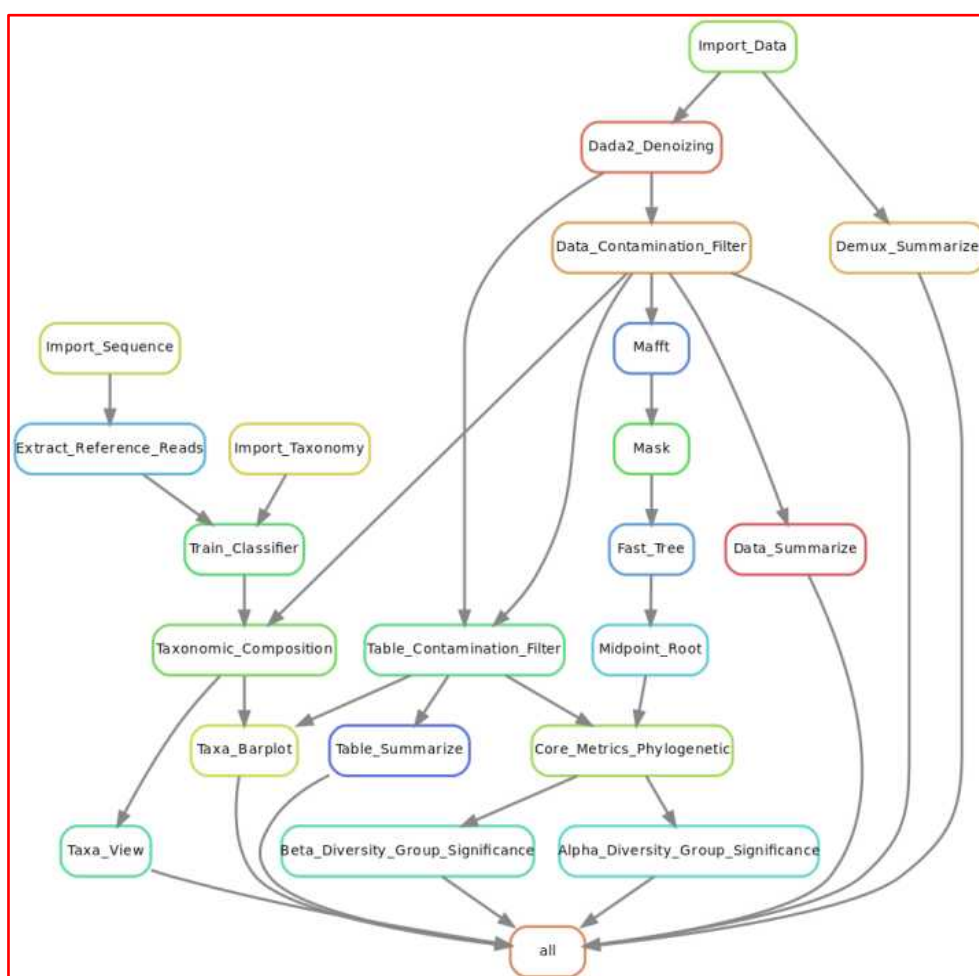


Figure 9 : Schématisation des différentes étapes implémentées dans le pipeline CNRT Bioindic, réalisé à l'aide du système d'optimisation Snakemake 3.5.5 (Rahmann, 2012). Les détails relatifs au déroulement du pipeline sont relatés dans le corps du texte.

Les ASVs détectés au sein du contrôle négatif (un contrôle par run, soit un pour les champignons et un pour les bactéries) ont été considérés comme de potentiels contaminants et par conséquent retirés du jeu de données (Galan et al., 2016). Les ASVs présents dans une seule sous-parcelle, quel que soit la formation végétale ou le site restauré, ont également été ôtés. L'idée était, tout comme pour les singletons cités plus en avant, de considérer ces ASVs comme de potentiels artefacts d'amplification plutôt qu'une diversité biologique réelle. Le nombre d'observations par échantillon a ensuite été normalisé, c'est-à-dire par un tirage aléatoire le nombre de lectures a été ramené à la même valeur pour tous les échantillons. Afin de ne pas perdre à cette étape un trop gros nombre de sous-parcelles et de disposer d'une assez grande profondeur de lecture, il a été défini qu'au moins trois sous-parcelles de 2 x 2 m par parcelles de 20 x 20 m devaient être conservés. Les valeurs ont ainsi été portées à 3,215 et 4,171 séquences par échantillon (pour rappel, équivalent à la sous-parcelle), respectivement, pour les champignons et les bactéries. Au final, 116 sous-parcelles et 372,940 séquences pour les champignons, et 117 sous-parcelles et 488,007 séquences pour les bactéries, ont été utilisées pour les analyses de communautés.

Etape 3, calcul d'indices de diversité et de dissimilarité : la suite de l'analyse (voir Figure 9) consiste à calculer un ensemble d'indices de diversités, tel que la richesse observée, l'indice de Chao (*i.e.* la richesse attendue), les indices de Simpson et de Shannon, l'Equitabilité, l'indice de Faith PD, ce dernier prenant en compte la distance phylogénétique entre les « espèces ». Les indices de dissimilarité de Bray-Curtis et de Jaccard, permettant d'appréhender la structure des communautés, ont également été calculés. L'ensemble de ces indices sont un préalable indispensable à l'étude des communautés, donnant une idée de la diversité rencontrée et de la répartition de celle-ci.

Etape 4, assignations taxonomiques : afin d'avoir de plus amples informations sur la composition en microorganismes du sol (du phylum à l'espèce), il est possible de procéder à une assignation taxonomique, sur la base des séquences. Pour ce faire, un apprentissage supervisé par classification (*i.e.* « machine learning ») a été réalisé sur des bases de données internationales de séquences préalablement téléchargées et préformatées au format de QIIME 2: UNITE-V7.2-2017.10.10-dynamic pour les champignons et SILVA-V132-2018.04.10-99 pour les bactéries. Dans l'optique d'une meilleure assignation, la base de données propre de l'IAC, comportant 311 séquences de références de champignons ectomycorhiziens (Carriconde et al., 2019), a été incorporée à celle de UNITE.

Les données de sorties du pipeline Bioindic ont permis de réaliser d'autres analyses présentées ci-après et regroupées en deux autres étapes :

- Etape 5 : analyses statistiques, ordination, inférence de réseaux et indices de restauration ;
- Etape 6 : assignation fonctionnelle.

Etape 5, analyses statistiques, ordination, inférence de réseaux et indices de restauration : la plupart des résultats obtenus lors de cette étape sont présentés dans les sections 3.1.4 et 3.1.5. En grande partie, ces analyses ont été effectuées dans l'environnement R (R Core Team, 2014) en utilisant les packages iNEXT (Chao et al., 2014; Hsieh et al., 2016), Vegan (Oksanen et al., 2011) et Jaunatre CSII (Jaunatre et al., 2013). En quelques mots, des courbes de raréfactions ont été générées (non-présentées), les indices de diversités comparés par un test de Kruskal-Wallis suivi d'un test post-hoc de Dunn, les matrices de distances (Bray-Curtis et Jaccard) visualisées *via* une représentation PCoA ainsi qu'une ordination nMDS, et finalement un test PERMANOVA (avec 9999 permutations) a été réalisé.

Afin d'utiliser d'autres approches complémentaires s'intéressant à la structure des communautés, des réseaux bipartites ont également été générés à l'aide de Gephi 0.9.2, un logiciel d'exploration et de manipulation de réseaux utilisant l'algorithme de spatialisation ForceAtlas2 (Bastian et al., 2009; Jacomy et al., 2014). Les indices $CSII_{norm}$ et HAI proposés dans le cadre de la restauration écologique par Jaunatre et al. (2013) ont également été calculés ; ces métriques, à notre connaissance, ont ici pour la première fois étaient utilisées sur des organismes autres que des plantes (Bulot et al., 2014; Chenot et al., 2017; Jaunatre et al., 2013; Pilon et al., 2018).

Etape 6, assignations fonctionnelles : pour finir, sur un point non des moindres, l'outil libre d'accès FUNguild (Nguyen et al., 2016) nous a permis d'attribuer, lorsque cela était possible, le type de guildes (e.g. ectomycorhizien, mycorhize à Orchidacées, pathogène de plantes, saprophyte du bois) et plus largement le groupe trophique (i.e. symbiotique, saprophyte et pathogène), auxquels se rattachaient les ASVs. Les assignations indiquées comme « possible », « probable » et « hautement probable » ont été conservées, ainsi que celles n'indiquant qu'une seule guildes (celles affectées à plusieurs étant considérées comme non clairement définies).

3.1.4. *VERS DES INDICATEURS MICROBIENS DE L'ETAT DES SOLS EN NOUVELLE-CALÉDONIE : UNE EVALUATION DU SUCCES DE LA RESTAURATION ECOLOGIQUE ?*

3.1.4.1. Des indices de diversité plus ou moins marqués

Quel que soit le modèle, le milieu, ou les objectifs, lorsque l'on s'intéresse aux communautés on se focalise en premier lieu sur la diversité. Sur l'ensemble, 3.221 ASVs (i.e. « espèces moléculaires ») ont été détectés dans les communautés fongiques du sol et 4.171 ASVs dans les communautés bactériennes. Le Tableau 2, ci-après, présente les divers indices calculés pour chaque formation végétale de référence, ainsi que pour les parcelles revégétalisées. Ce qui apparaît, c'est une plus faible richesse observée, ainsi qu'attendue (indice de Chao) en champignons, au sein du maquis ouvert. Cette plus faible diversité dans les premiers stades de la succession écologique se retrouve dans les autres indices (Simpson, Shannon, l'Equitabilité et Faith PD). Il nous semble donc entrevoir, pour les champignons, le long de cette chronoséquence, une distinction entre ce que nous pourrions appeler en termes de couverture végétale le « milieu ouvert », correspondant au maquis ouvert, et les « milieux fermés », comprenant le maquis dense, le maquis paraforestier à *G. deplancheanum* et le maquis préforestier (pour illustrations se reporter à la Figure 6). Lorsque l'on s'intéresse aux parcelles revégétalisées, quatre des sites, plus précisément les sites A1, A3, B et C, présentent une richesse observée et attendue en ASVs fongiques équivalente à celle du maquis ouvert, et par conséquent significativement moins élevée que celles des autres végétations de référence. Pour le site A2, ces deux indices sont quant à eux non significativement différents du maquis ouvert, mais également équivalents à ceux des maquis dense et préforestier.

Etonnamment et contrairement aux champignons, en comparaison aux trois autres types de végétation, le nombre d'ASVs observés, ainsi que la richesse attendue en bactéries sont globalement supérieurs dans le maquis ouvert ; ceci est d'autant plus « vrai » pour le second indice, l'indice de Chao (Tableau 2). Néanmoins, il se dégage de ces résultats une même

tendance que pour les communautés fongiques, à savoir une distinction au sein de la chronoséquence entre le milieu ouvert et les milieux dits fermés de référence. Les sites revégétalisés pour leur part ne montrent pas, pour cette communauté du sol, de tendance particulière.

Dans l'ensemble, les différences au niveau des indices de diversité entre les systèmes étudiés sont moins marquées pour les bactéries que pour les champignons.

Tableau 2 : Indices de diversité des communautés de champignons et de bactéries du sol calculés pour chaque type de végétation de référence (OLM, maquis ouvert ; CLM, maquis dense ; TCM.Gd, maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* ; TCM.Fs, maquis paraforestier) et les sites revégétalisés (A1, A2 et A3 correspondent aux trois sites de l'ancienne pépinière, B et C, aux sites de Kebini et Cofremi, respectivement). Le nombre de sous-parcelles retenues est indiqué.

Microorganisms	Formations	Subplots	ASVs (± SE)			Diversity (± SE)				
			Observed	Chao 1		Simpson (1-D)	Pielou evenness (J)	Shannon (H)	Faith (PD)	
Fungi	OLM	21	97 ± 5	a	104 ± 6	a	0.928 ± 0.008	a	4.97 ± 0.13	a
	CLM	22	133 ± 7	bc	141 ± 8	bc	0.947 ± 0.009	a	5.61 ± 0.16	bc
	TCM.Gd	24	161 ± 6	b	173 ± 7	b	0.954 ± 0.007	a	5.84 ± 0.13	b
	TCM.Fs	22	131 ± 11	c	139 ± 11	c	0.935 ± 0.018	a	5.56 ± 0.22	bc
	A1	4	74 ± 14	a	76 ± 15	a	0.907 ± 0.016	a	4.45 ± 0.19	a
	A2	8	106 ± 11	ac	114 ± 13	ac	0.921 ± 0.012	a	4.84 ± 0.15	a
	A3	3	79 ± 8	a	80 ± 9	a	0.920 ± 0.009	a	4.73 ± 0.15	ac
	B	4	79 ± 13	a	83 ± 14	a	0.928 ± 0.018	a	4.80 ± 0.18	ac
	C	8	93 ± 6	a	99 ± 7	a	0.943 ± 0.006	a	5.07 ± 0.15	ac
	KRUSKAL-WALLIS H test	116	7.4e-09	***	7.1e-09	***	0.002	**	0.007	**
Bacteria	OLM	22	48 ± 4	a	48 ± 4	a	0.952 ± 0.007	ab	4.95 ± 0.15	a
	CLM	22	37 ± 2	ab	37 ± 2	ab	0.952 ± 0.003	abc	4.73 ± 0.09	ab
	TCM.Gd	23	30 ± 2	b	30 ± 2	b	0.931 ± 0.007	b	4.30 ± 0.13	b
	TCM.Fs	23	33 ± 3	b	33 ± 3	b	0.935 ± 0.007	ab	4.43 ± 0.14	b
	A1	4	36 ± 4	ab	36 ± 4	ab	0.955 ± 0.003	abc	4.90 ± 0.22	ab
	A2	7	39 ± 6	ab	39 ± 6	ab	0.948 ± 0.008	abc	4.53 ± 0.21	ab
	A3	4	46 ± 3	ab	46 ± 3	ab	0.965 ± 0.001	ac	4.53 ± 0.07	ab
	B	4	24 ± 3	b	24 ± 3	b	0.929 ± 0.012	ab	4.10 ± 0.24	b
	C	8	58 ± 7	a	58 ± 7	a	0.970 ± 0.004	b	5.42 ± 0.19	a
	KRUSKAL-WALLIS H test	117	1.3e-04	***	1.2e-04	***	1.2e-04	***	0.002	**

ns : non-significatif, ** : $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

3.1.4.2. Composition des communautés microbiennes : les ratios, de bons indicateurs de la restauration ?

Environ 50% des séquences de champignons ont été identifiées au moins au niveau du phylum. Sur ces 50%, deux phyla dominent à hauteur de 96.7% : les Ascomycètes et les Basidiomycètes (Figure 10.A). Lorsque l'on s'intéresse au ratio Ascomycètes:Basidiomycètes, une différence claire émerge entre le maquis ouvert et les maquis fermés. Dans le premier stade de la chronoséquence de référence, les Ascomycètes dominent (ratio > 1), contrairement aux trois autres formations où les Basidiomycètes sont largement plus abondants (ratio < 1). Les sites revégétalisés présentent également des différences notables (Figure 10.A). Le site A2 de l'ancienne pépinière se rapproche des végétations dites fermées, tandis que les sites A1 et A3 de cette même zone sont plus proches du maquis ouvert. Pour ce qui est des sites B et C, ils présentent un profil intermédiaire. Gourmelon et ses collaborateurs (2016) ont suggéré qu'une plus forte abondance en Ascomycètes pourrait être un indicateur d'écosystèmes dégradés. Gellie et ses collaborateurs (2017), se basant sur ce

précédent travail et sur leurs résultats, suggèrent également que ce ratio pourrait être un bon indicateur biologique de l'état du milieu. En effet, ils démontrent une réduction de l'abondance en Ascomycètes et une augmentation de celle en Basidiomycètes en fonction de l'âge du système restauré. Ce ratio en plus d'être proposé comme un indicateur de dégradation, peut être, à l'inverse, vu comme un marqueur de recolonisation du milieu.

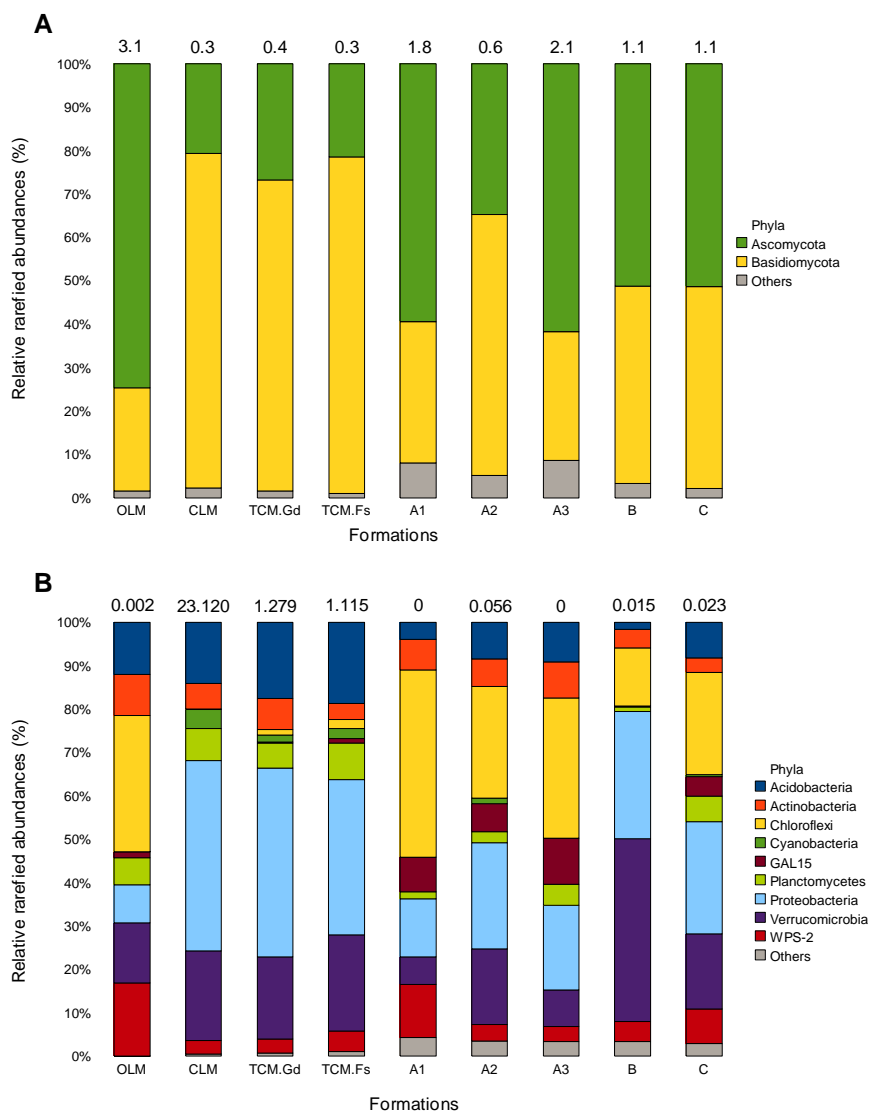


Figure 10 : Abondance relative des différents phyla (A) fongiques et (B) bactériens le long de la chronoséquence de référence (OLM, maquis ouvert ; CLM, maquis dense ; TCM.Gd, maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* ; TCM.Fs, maquis paraforestier), ainsi qu'au sein des systèmes revégétalisés (A1, A2 et A3 correspondent aux trois sites de l'ancienne pépinière, B et C, aux sites de Kebini et Cofremi, respectivement). Seuls les phyla ayant une abondance relative > 1.8% sont représentés. Les rapports Ascomycètes:Basidiomycètes et Cyanobactéries:Chloroflexi sont présentés respectivement au-dessus de chaque barre de l'histogramme pour les champignons et les bactéries.

Tout comme pour les champignons, la composition en phyla des communautés bactériennes varie grandement entre le maquis ouvert et les trois autres types de formations (Figure 10.B). Ces différences sont principalement dues à la surreprésentation du groupe des Chloroflexi dans le premier stade de la succession végétale, et celle des Protéobactéries dans les autres stades. Le long de cette séquence, les Acidobactéries semblent augmenter graduellement. Quant aux Cyanobactéries, ce phylum est presque absent des parcelles de maquis ouvert. Sur les sites revégétalisés, les Chloroflexi se retrouvent en large proportion dans la quasi-totalité de ces sites et les Cyanobactéries n'ont été observées que dans les sites A2 et C. Dans le cadre d'une méta-analyse se basant sur plus de cent publications, Trivedi et ses collaborateurs (2016) ont montré que les Chloroflexi représentaient l'un des phyla les plus abondants dans les sols cultivés, alors que les Acidobactéries, les Protéobactéries et les Cyanobactéries dominaient quant à eux dans les sols dits non-cultivés. Ces observations s'accordent entièrement avec nos résultats, les systèmes agricoles pouvant s'apparenter aux systèmes restaurés.

Attardons-nous un peu plus sur ce groupe des Chloroflexi. Les membres de ce phylum appartenant à la Classe des Ktedonobacterales ont été détectés comme dominants au sein d'environnements connus comme limités en éléments nutritifs, plus précisément dans des sédiments s'étant déposés dans des grottes (Barton et al., 2014). Dans notre étude, les Ktedonobacterales constituent la Classe majoritaire, en termes d'abondance relative et de richesse spécifique, avec 242 ASVs sur les 313 identifiés. En comparaison et à l'opposé des trois maquis fermés, leur large représentation pourrait être due au caractère oligotrophe (*i.e.* appauvri en éléments nutritifs) des milieux dans lesquels ils se développent. Trivedi et al. (2016) suggèrent que dans des environnements aux ressources limitées, les Chloroflexi seraient plus compétitifs que les Cyanobactéries. Selon leurs propres observations et celles menées sur des croûtes biologiques par Kuske et al. (2012), ces auteurs stipulent que ces deux phyla pourraient être utilisés comme outil d'alerte précoce de la dégradation des sols (« early warning tools for soil degradation »). À l'image du rapport Ascomycètes:Basidiomycètes, le ratio Cyanobactéries:Chloroflexi pourrait ainsi être utilisé. Il est d'ailleurs très intéressant de constater que ce dernier présente, dans une certaine mesure, une tendance similaire à celle des champignons, à savoir de plus faibles valeurs dans le maquis ouvert et les sites restaurés, avec pour les sites A2 et C, des valeurs légèrement plus élevées (Figure 10.B).

Afin de mesurer le succès d'actions de restauration, un autre ratio a été récemment proposé, celui établi entre les champignons saprophytes et les champignons ectomycorhiziens (Avis et al., 2017). À l'aide de l'outil d'annotation FunGuild (Nguyen et al., 2016), sur la base de données issues du séquençage en masse (voir également en section 3.1.3, l'étape 6), une étude a mis en pratique cette approche en calculant le rapport entre saprophytes et symbiotiques, incluant pour ce dernier d'autres groupes de champignons que les seuls ectomycorhiziens (Yan et al., 2018). Néanmoins, aucune tendance ne fut observée entre les différentes parcelles restaurées de différents âges. En ce qui nous concerne, les résultats sont tout autres (Figure 11). En effet, les sites A1, A3 et B se rapprochent du maquis ouvert avec une grande abondance de saprophytes et une faible représentation des champignons ectomycorhiziens, à l'inverse des maquis fermés et des sites A2 et C pour lesquels les champignons ectomycorhiziens sont majoritaires (Figure 11). Ceci se retrouve, en toute logique, dans le calcul des ratios Saprophytes:Symbiotiques (les saprophytes incluent plusieurs guildes : ceux présents dans le bois et dans le sol, ainsi que ceux rentrant dans la catégorie indiquée comme saprophytes non-définis ; pour les symbiotiques, ce mode trophique inclus, dans notre étude, les champignons ectomycorhiziens, endomycorhiziens,

éricoïdes et les champignons des lichens) (Figure 11). Nos résultats confirment l'intérêt d'un tel indice dans le suivi d'opérations de restauration écologique.

En plus de cet aspect pratique, les variations de proportions de ces deux grands groupes trophiques soulèvent des interrogations quant à leurs rôles dans le fonctionnement des écosystèmes naturels, ainsi que dans les systèmes ayant été revégétalisés, tout particulièrement au regard du cycle des éléments et de la dynamique des communautés végétales. En effet, les champignons impliqués dans la symbiose ectomycorhizienne seraient pour certains capables de dégrader la matière organique afin d'accéder à l'azote (Shah et al., 2016). Une telle capacité jouerait sur la dynamique de l'azote et du carbone, et par voie de fait sur la croissance des plantes (Zak et al., 2019) et l'évolution des communautés végétales dans le temps. A cela pourrait s'ajouter un phénomène dit de facilitation (Nara et al., 2003). En effet, la plus grande proportion de champignons ectomycorhiziens observée le long de la succession écologique de référence, pourrait s'expliquer par l'arrivée de nouvelles espèces de plantes ectomycorhiziennes bénéficiant des inocula et des réseaux fongiques déjà présents dans le sol. La large surabondance de ce groupe de champignons pourrait également résulter du développement d'une espèce végétale en particulier favorisant le recrutement de juvéniles de la même espèce, un cas que nous retrouvons dans les formations monodominantes (e.g. Demenois et al., 2017; McGuire, 2014), c'est-à-dire des formations végétales dont la canopée est dominée au moins à 50% par une seule espèce.

Ainsi, afin de mieux appréhender les mécanismes ayant cours au sein des parcelles revégétalisées et des milieux naturels adjacents, il s'avérerait essentiel de s'intéresser directement aux fonctions, notamment *via* des approches s'attachant à l'expression des gènes dans le sol, ou encore définissant le statut mycorhizien des espèces présentes dans ces milieux. En effet, pour ce qui est de l'ectomycorhization, seules treize espèces de plantes sont connues comme étant impliquées dans cette interaction en Nouvelle-Calédonie (Amir & Ducouso, 2010; Carriconde et al., 2019) ; or, il est très fortement probable que bien d'autres espèces le soient. En effet, sans pouvoir parvenir à identifier clairement l'espèce, Carriconde et ses collaborateurs (2019) ont pu constater au sein d'une forêt mixte dans le sud de la Grande Terre, l'implication d'un partenaire chlorophyllien appartenant à la famille des Cunoniaceae.

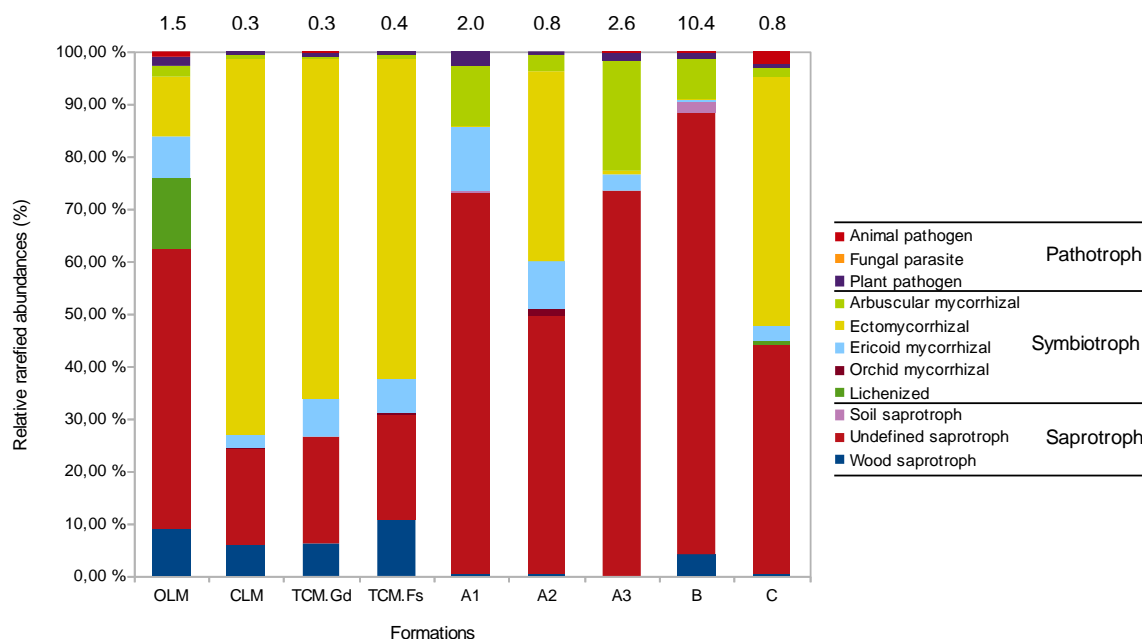


Figure 11 : Abondances relatives des guildes de champignons au sein de la chronoséquence de référence et des sites revégétalisés. OLM, maquis ouvert ; CLM, maquis dense ; TCM.Gd, maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* ; TCM.Fs, maquis paraforestier. A1, A2 et A3 correspondent aux trois sites de l'ancienne pépinière, B et C, aux sites de Kuebini et Cofremi, respectivement. Le ratio Symbiotique:Saprophyte figure au-dessus de chaque barre.

3.1.4.3. Des communautés microbiennes distinctes

Quel que soit le type d'analyse conduit, toutes convergent vers une structure des communautés microbiennes du sol (Tableaux 3 & 4 ; Figures 12 & 13). Les analyses de répartition de la variance, les PERMANOVA, traduisent en effet dans l'ensemble une distinction nette entre communautés, que ce soit pour les champignons ou les bactéries, et ce quel que soit l'indice de dissimilarité (pour les champignons, indice de Bray-Curtis : $R^2 = 0.078$, $P < 0.05$, indice de Jaccard : $R^2 = 0.075$, $P < 0.05$; pour les bactéries, indice de Bray-Curtis : $R^2 = 0.073$, $P < 0.1$, indice de Jaccard : $R^2 = 0.072$, $P < 0.05$).

Cette structure se retrouve visuellement sur les représentations NMDS (« non-metric multidimensional scaling »), avec pour les champignons un recouvrement entre le maquis dense, le maquis paraforestier et le maquis préforestier (Figure 12.A), et pour les bactéries un recouvrement entre écosystèmes de référence encore plus marqué (Figure 12.B). Le maquis ouvert se dissocie des trois autres formations, surtout concernant les champignons. Il apparaît donc clairement une gradation le long de la chronoséquence, avec néanmoins, une distinction nette du maquis ouvert. Ceci pourrait laisser supposer qu'il existe une étape de la succession manquante entre cette formation ouverte et les trois autres ; cette étape étant tout bonnement absente de la zone d'étude (se référer également à la section 4.1 sur l'étude des communautés végétales). Ce manque pourrait être dû au caractère fragmenté des formations végétales au

sein de la mosaïque paysagère, elle-même étant très probablement la conséquence des feux et des prospections minières passés.

Lorsque nous portons notre attention sur les sites revégétalisés, ceux-ci apparaissent distincts des végétations de référence, tout particulièrement pour les champignons (Figure 12).

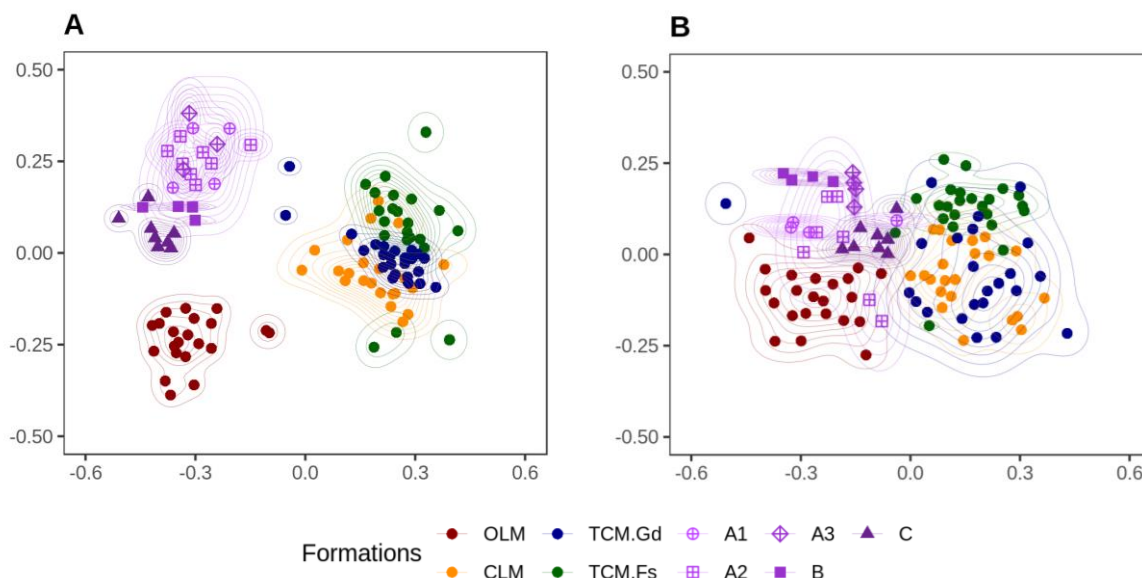


Figure 12 : Représentation NMDS se basant sur l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis entre les communautés (A) fongiques et (B) bactériennes des quatre écosystèmes de références (OLM, maquis ouvert ; CLM, maquis dense ; TCM.Gd, maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* ; TCM.Fs, maquis préforestier) et des cinq sites restaurés (A1, A2, A3 : sites de l'Ancienne pépinière ; B : site de Kuebini ; C : site de Cofrémi) situés sur le plateau de Goro.

Cette structure se retrouve dans les réseaux bipartites (Figure 13). Les analyses de partition de réseaux (Tableau 3), analyses n'ayant pas d'a priori sur les communautés, détectent pour les champignons et les bactéries, respectivement, 10 et 8 communautés distinctes.

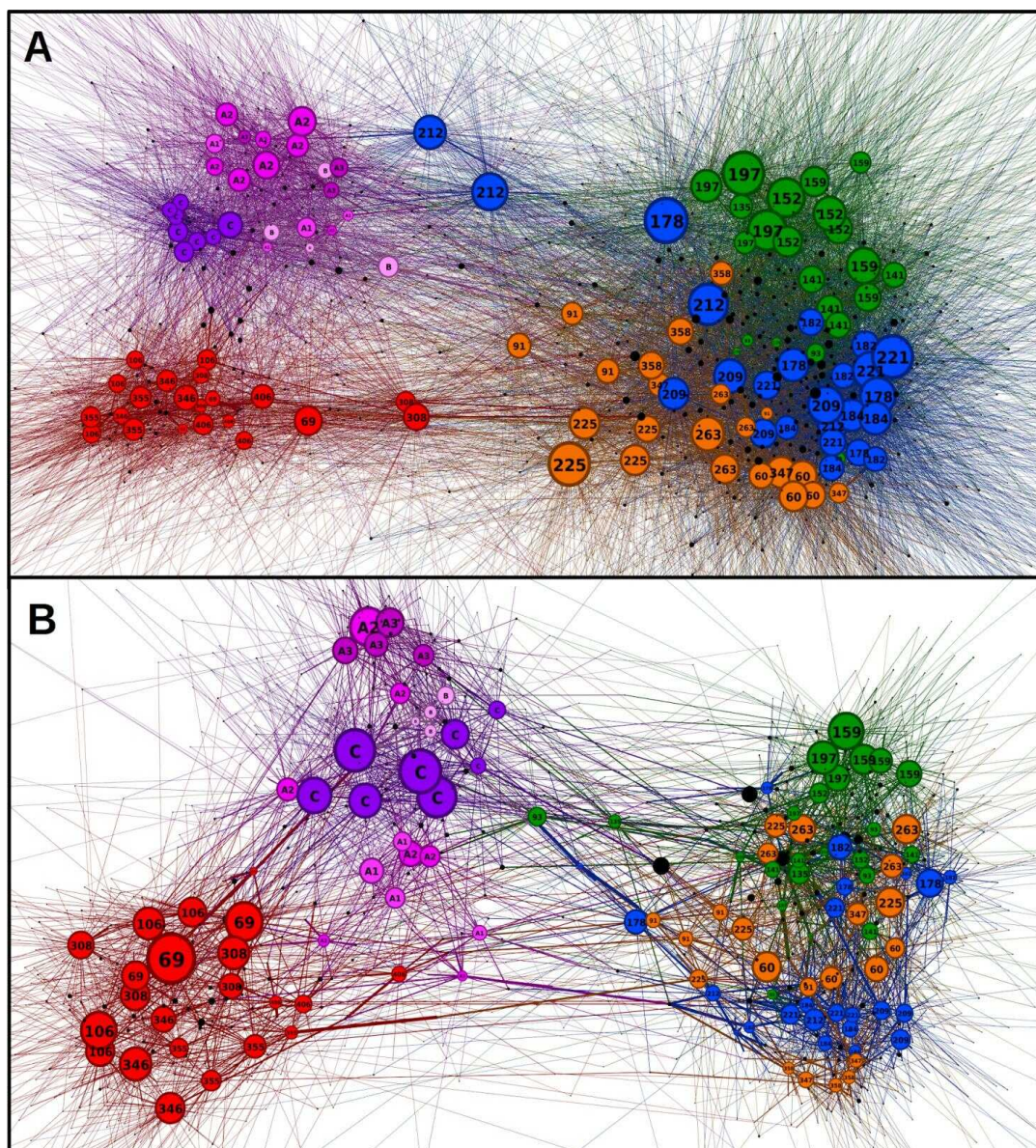
Sur les 10 communautés fongiques, la première regroupe 20 des 21 parcelles de maquis ouvert ; les 6 suivantes (2 à 7) comprennent des parcelles au couvert végétal fermé, selon une gradation ; les 3 dernières ne contiennent que des parcelles disposées dans les sites revégétalisés.

Les données issues des bactéries du sol présentent une tendance relativement similaire. Sur les 8 communautés, la première comprend toutes les parcelles issues du maquis ouvert et uniquement une parcelle du maquis dense ; les 5 suivantes (2 à 6) constituent une gradation des milieux fermés de référence ; finalement, les deux dernières communautés ne sont composées que de parcelles des zones revégétalisées.

Tableau 3 : Communautés fongiques et bactériennes définies sans a priori sur la base des réseaux bipartites. Les communautés sont numérotées de 1 à 10 (jusqu'à 10 pour les champignons et 8 pour les bactéries). Le nombre de sous-parcelles de 2 x 2 m pour chaque type de système étudié est présenté.

Abbreviations : OLM, maquis ouvert ; CLM, maquis dense ; TCM.Gd, maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* ; TCM.Fs, maquis préforestier ; A1, A2, A3 : sites revégétalisés de l'Ancienne pépinière ; B : site revégétalisé de Kuebini ; C : site revégétalisé de Cofrémi).

Microorganisms	Formations	Subplots	Bipartite network modularity classes									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fungi	OLM	21	20	1								
	CLM	22		3	4	6	6	3				
	TCM.Gd	24			3	7	11	1			1	1
	TCM.Fs	22			4	3	2	8	5			
	A1	4								1	3	
	A2	8								5	3	
	A3	3									3	
	B	4								4		
	C	8										8
Bacteria	OLM	22	22									
	CLM	22		1	2	3	6	5	5			
	TCM.Gd	23			1	3	1	11	7			
	TCM.Fs	23				2	1	2	16	1	1	
	A1	4									4	
	A2	7		1			1		3	2		
	A3	4							4			
	B	4							4			
	C	8							3	5		



Legend

- Open low maquis
- Closed low maquis
- Tall closed maquis with *Gymnostoma d.*
- Tall closed maquis with forest species
- Revegetalized site A1
- Revegetalized site A2
- Revegetalized site A3
- Revegetalized site B
- Revegetalized site C

Figure 13 : Réseaux bipartites réalisés pour (A) les champignons et (B) les bactéries du sol. Les nœuds représentés en couleurs correspondent aux formations végétales (cf. légende ci-dessus) ; leur taille est proportionnelle au nombre de liens (qualifiés d'arêtes), donc ici à la richesse spécifique ; les chiffres figurant à l'intérieur correspondent à la dénomination de la parcelle (cf. section 2.4). Les nœuds figurant en noirs représentent les ASVs. La taille des nœuds est proportionnelle au nombre de connexions des ASVs.

3.1.4.4. Éléments de discussion et de conclusion

Alors que nous avons préalablement constaté certaines similarités au niveau phyla et modes trophiques, les résultats sur la structure des communautés montrent que les ASVs rencontrés dans les sites restaurés ne sont pas les mêmes que ceux des milieux de référence, ou sont présents dans des proportions variables. Et pourtant, les ratios calculés (Ascomycètes:Basidiomycètes, Cyanobactéries:Chloroflexi et Saprophytes:Symbiotiques) nous permettent de stipuler que les sites A2 et C présentent une trajectoire de récupération tendant vers les milieux fermés, tandis que les sites A1, A3 et B se rapprochent du milieu ouvert. Les sites A2 et C arborent donc un plus grand succès de restauration. Dans une certaine mesure, ceci est, corroboré par les indices de succès de restauration écologique, CSII_{norm} (« Normalized Community Structure Integrity Index ») et HAI (« Higher Abundance Index »), développés par Jaunatre et al. (2013) et utilisé à ce jour uniquement sur les communautés de plantes (Tableau 4). Pour ne parler que de l'indice CSII_{norm}, les plus fortes valeurs ont en effet été observées, dans l'ensemble, pour les parcelles A2 et C (Tableau 4). Néanmoins, ces valeurs restent relativement faibles, et sont le plus élevées lorsque la comparaison est faite au maquis ouvert (à l'exception de la parcelle C pour les communautés bactériennes) ; ceci indique, encore une fois, mais d'une autre manière, que peu d'ASVs présents dans les milieux de référence se retrouvent dans les milieux restaurés (e.g. 16% pour A2 par rapport au maquis ouvert ; Tableau 4).

Nous observons donc des compositions distinctes, mais des similarités émergent, notamment en termes de modes trophiques ; ceci traduit la présence d'espèces moléculaires (ASVs) ayant des rôles fonctionnels équivalents. Cet aspect n'est pas des moindres. En effet, il soulève la question suivante : qu'appelle-t-on « un succès » en restauration écologique ? Bien que de prime abord nous puissions penser que cette question paresse fortuite, elle est en réalité essentielle. Dans un programme de restauration, tout dépend des objectifs qui sont préalablement définis : est-il de s'axer sur le retour à une diversité originelle ? ou de favoriser le retour de fonctions indispensables au bon dynamisme des écosystèmes ? Cette question se doit d'être traitée au regard du modèle d'étude approché. En effet, peut-on attendre les mêmes choses de microorganismes que de macroorganismes ?

Quoi qu'il advienne, il n'en est pas moins vrai que les microorganismes couplés au séquençage en masse représentent une voie indéniable pour le diagnostic environnemental. Nous avons en effet pu montrer que le calcul de divers ratios se basant sur la composition en phyla et en groupes fonctionnels, ainsi que la structure des communautés, peuvent être des indicateurs biologiques d'intérêt pour la restauration écologique et l'évaluation de son succès. Le niveau de maturité technologique (Technology Readiness Level (TRL), en anglais) peut être utilisé pour mesurer le niveau d'opérabilité d'un indicateur et de la technologie sur laquelle il se base. Nos travaux corroborent les dires de Bouchez et ses collaborateurs (2016) selon lesquels le séquençage en masse des microorganismes du sol en tant qu'indicateur moléculaire microbien se situe en haut de l'échelle, en d'autres termes il peut être appliqué au niveau industriel. Bien évidemment ce niveau d'opérabilité repose sur un ensemble de critères qui se doit d'être évalué selon les situations d'utilisation (Bouchez et al., 2016). C'est critères sont : la capacité du bioindicateur à être marqueur du fonctionnement d'un écosystème ou des modifications que celui-ci peut subir, sa facilité à être mis en œuvre et à être interprété, sa potentialité à être industrialisé, son coût, la présence d'un système de référence et son aptitude à être utilisé pour le suivi environnemental (Bouchez et al., 2016). Les outils que nous avons développés répondent à l'ensemble de ces exigences, ceci en grande partie grâce au développement d'un pipeline d'analyse personnalisé. Néanmoins, nous les avons ici utilisés

sur un système que nous pourrions qualifier de « simple », *i.e.* plantation d'espèces végétales sans apport de topsoils, sans ensemencement par des graines, ou autres techniques (pour les raisons fournies, se référer à la section 2). A la suite de ce projet de recherche, il serait extrêmement judicieux de tester ces bioindicateurs microbiens dans d'autres systèmes ayant fait l'objet d'autres techniques de restauration.

Tableau 4 : Calcul des indices de restauration écologique CSII_{norm} (« Normalized Community Structure Integrity Index ») et HAI (« Higher Abundance Index ») entre les sites revégétalisés (A1, A2, A3, B et C) et les quatre formations végétales de références (OLM, maquis ouvert ; CLM, maquis dense ; TCM.Gd, maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* ; TCM.Fs, maquis préforestier).

Microorganisms	Formations	Normalized Community Structure Integrity Index (CSII norm)				Higher Abundance Index (HAI)			
		OLM	CLM	TCM.Gd	TCM.Fs	OLM	CLM	TCM.Gd	TCM.Fs
Fungi	A1	0.101	0.050	0.046	0.041	0.973	0.990	0.989	0.992
	A2	0.170	0.053	0.052	0.027	0.955	0.989	0.987	0.994
	A3	0.122	0.028	0.062	0.039	0.968	0.994	0.985	0.992
	B	0.105	0.048	0.034	0.037	0.972	0.990	0.992	0.993
	C	0.175	0.042	0.032	0.024	0.954	0.991	0.992	0.995
Bacteria	A1	0.107	0.063	0.097	0.140	0.984	0.993	0.991	0.979
	A2	0.160	0.044	0.090	0.047	0.976	0.995	0.992	0.993
	A3	0.083	0.017	0.005	0.071	0.987	0.998	1.000	0.989
	B	0.105	0.036	0.067	0.026	0.984	0.996	0.994	0.996
	C	0.246	0.150	0.104	0.199	0.962	0.983	0.991	0.970

3.1.5. VERS UN REFERENTIEL MICROBIEN DE L'ULTRAMAFISME EN NOUVELLE-CALEDONIE

3.1.5.1. Une méta-analyse des communautés microbiennes des sols ultramafiques : éléments méthodologiques

Comme nous l'avons précédemment indiqué, le développement de bioindicateurs passe en premier lieu par l'identification d'écosystèmes dits de référence. En effet, selon McDonald et al. (2016), un écosystème de référence représente l'objectif à atteindre. Ceci suppose donc d'en connaître les attributs (diversité, structure et fonctionnalité) et de définir au préalable, comme nous l'avons déjà souligné, les attendus de l'action de restauration menée. Les substrats ultramafiques hébergent une grande variété de formations végétales (L'Huillier & Jaffré, 2010), susceptibles de représenter différents stades d'une succession écologique et par conséquent différents états d'intérêt. Il s'avère donc, avant toute chose, indispensable de caractériser ses divers types de végétation et d'essayer d'appréhender aux mieux leur fonctionnement, notamment en ce qui concerne les interactions plantes-sols-microorganismes.

Dans cette optique, grâce au pipeline Bioindic, nous avons réalisé une méta-analyse à partir de données de séquençage en masse (Illumina MiSeq) de communautés microbiennes (champignons et bactéries) du sol, en combinant les résultats de ce projet de recherche à ceux obtenus dans le cadre de la collaboration de recherche IAC-SLN, dans laquelle deux thèses de doctorats ont été réalisées (Demenois, 2017; Gourmelon, 2016). Ainsi, l'analyse s'est portée sur cinq sites d'études disposés sur l'ensemble de la Grande Terre sur substrats ultramafiques : trois localisés sur le grand massif du sud (le plateau de Goro, les Bois du Sud

et la Rivière Blanche), et deux sur des massifs isolés dans le nord (les massifs de Kopéto et de Tiébaghi) (Figure 14).

Les formations végétales du plateau de Goro et du massif de Tiébaghi se développent sur des sols cuirassés, tandis que ceux des trois autres sites se développent sur des sols dits latéritiques. Des parcelles de 20 m x 20 m ont ainsi été établies dans douze formations végétales distinctes (Tableau 5 et Figure 15), représentant, en plus du plateau de Goro, différentes successions écologiques potentielles. Le dispositif compte 69 parcelles en milieu naturel, auxquelles s'ajoutent les 7 parcelles revégétalisées de Goro, et 15 parcelles situées sur l'île de Maré. Ce dernier site a servi de groupe externe, les parcelles se trouvant dans un système insulaire sur des sols non-ultramafiques, plus précisément sur des ferralsols à gibbsite. L'analyse a donc, au final, porté sur 91 parcelles.

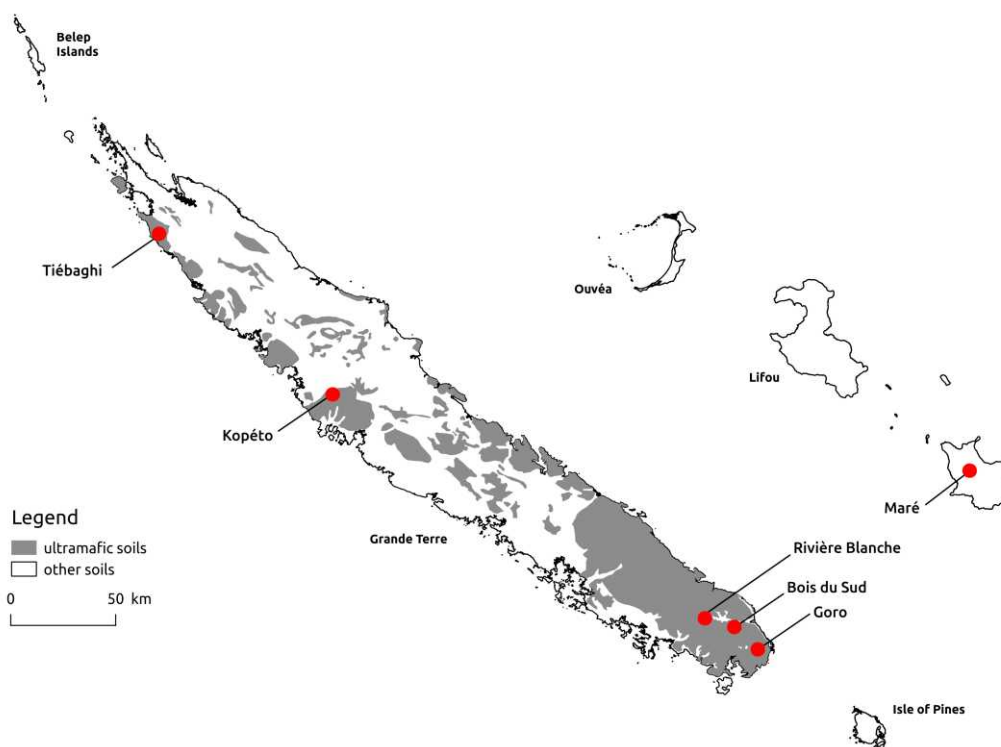


Figure 14 : Localisation des cinq sites sur substrats ultramafiques (Goro, Bois du Sud, Rivière Blanche, Kopéto et Tiébaghi) utilisés pour la méta-analyse. Le site de Maré servant de groupe externe est également montré.

Tableau 5 : Informations relatives aux cinq sites et douze formations végétales attenantes inclus dans la méta-analyse des communautés microbiennes du sol.
Les acronymes utilisés dans cette étude et le nombre de parcelles sont indiqués (les acronymes utilisés dans de précédents travaux ne sont pas présentés).
Pour le site de Goro, pour de plus amples informations, se référer aux sections 2 et 4.1).

Site	Type de végétation	Description	Acronyme dans cette étude	Nombre de parcelles de 20m x 20m
Plateau de Goro (GO)	Maquis ouvert	Maquis très clairsemé, qualifié de maquis ouvert.	OLM	6
	Maquis dense	Maquis dont la strate haute atteint les 5 à 10 m.	CLM	6
	Maquis paraforestier à <i>Gymnostoma deplancheanum</i>	Maquis atteignant les 10 m ou plus et dominé par l'espèce <i>Gymnostoma deplancheanum</i> (Casuarinaceae).	TCM.Gd	6
	Maquis préforestier	Maquis enrichi en espèces forestières.	TCM.Fs	6
	Sites revégétalisés	Espèces plantées distinctes selon le site.	RS	7
Tiébaghi (T)	Maquis arbustif	Maquis dont la strate supérieure ne dépasse pas les 3 m.	OLM	3
	Maquis arbustif développé	Maquis dont la strate supérieure atteint les 5 à 10 m. Constitué des mêmes espèces que celles présentent dans le maquis arbustif.	CLM	3
	Maquis paraforestier	Maquis dont la strate supérieure peut dépasser les 10 m. Formation semblant figée à échelle humaine.	TCM	3
Kopéto (KO) et Rivière Blanche (RB)*	Maquis à Cypéracées	Couverture végétale limitée (tout particulièrement sur le site de la Rivière Blanche) dominée par des Cyperaceae (<i>Costularia spp.</i>)	OHM.C	8
	Maquis à <i>Tristaniopsis spp.</i>	Maquis dominé par des arbustes du genre <i>Tristaniopsis</i> (Myrtaceae) dont la strate supérieure ne dépasse pas les 3 m.	OLM.T	8
	Forêt monodominante à <i>Nothofagus aequilateralis</i>	Forêt dont la canopée est dominée au moins à 50% par l'espèce d'arbre <i>Nothofagus aequilateralis</i> (Nothofagaceae), connue comme pionnière de forêt. Cinq espèces sont présentes en Nouvelle-Calédonie et endémique au territoire.	RF.Na	8
	Forêt mixte	Forêt dont la canopée n'est pas dominée par une espèce d'arbre en particulier.	RF	8
Bois du Sud (BS)	Forêt monodominante à <i>Arillastrum gummiferum</i>	Forêt dans la canopée est dominée par <i>Arillastrum gummiferum</i> (Myrtaceae). Ce genre monospécifique est endémique à la Nouvelle-Calédonie et uniquement présent sur le Massif du Grand Sud.	BS	4
Maré (MA)	Forêt	Forêt servant de groupe externe.	F	5
	Jachère courte	Culture d'igname traditionnelle sur des cycles de jachères courts servant de groupe externe.	SFI	5
	Jachère longue	Culture d'igname traditionnelle sur des cycles de jachères longs servant de groupe externe.	LFI	5

* Sur ces deux sites, les mêmes formations végétales ont été étudiées (4 parcelles par formation et par site).

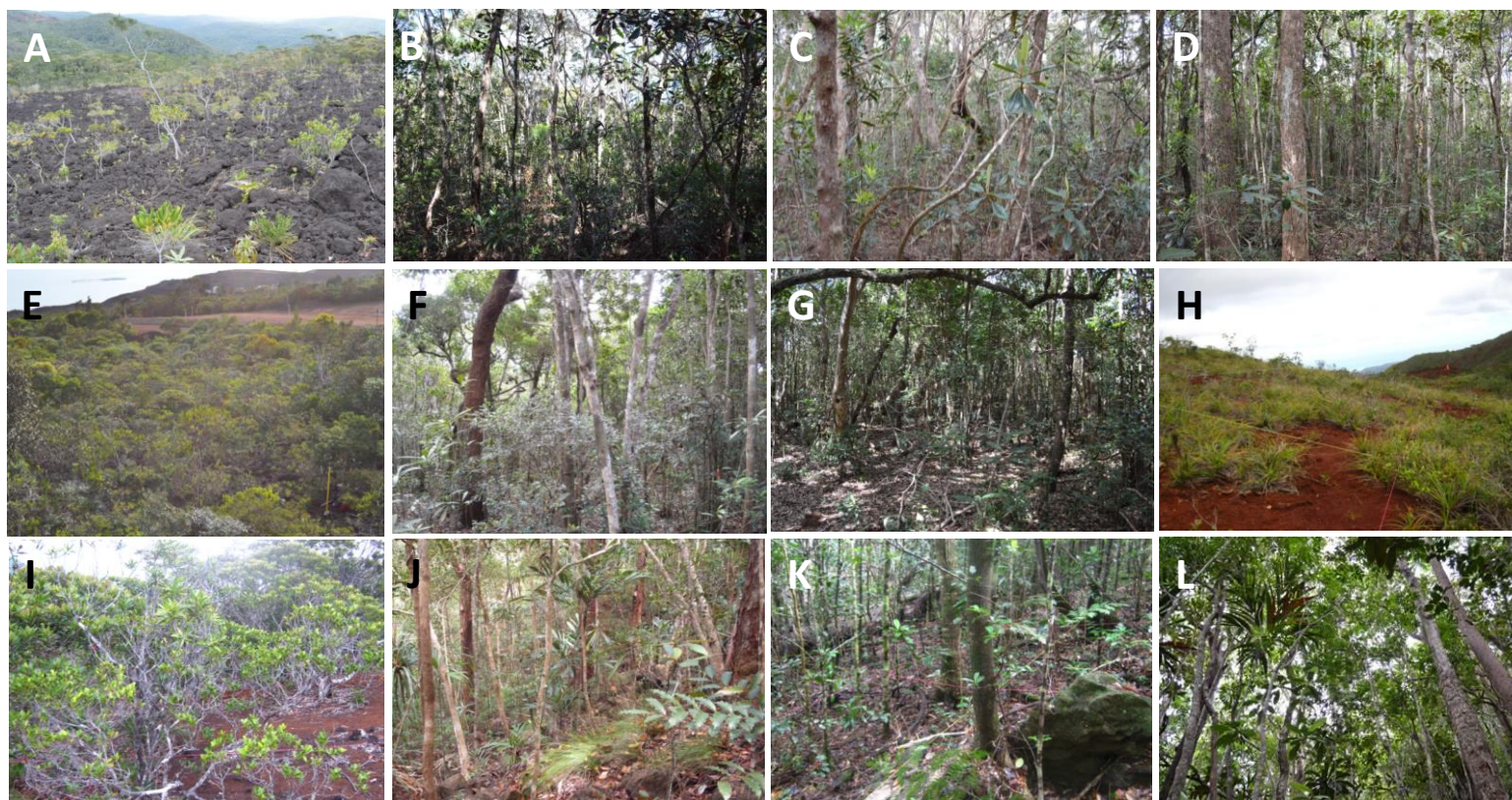


Figure 15 : Photographies des douze formations végétales de références incluses dans la méta-analyse et classées par site et stade de développement : (A) maquis ouvert (Goro), (B) maquis dense (Goro), (C) maquis paraforestier (Goro), (D) maquis préforestier (Goro), (E) maquis arbustif (Tiébaghi), (F) maquis arbustif développé (Tiébaghi), (G) maquis paraforestier (Tiébaghi), (H) maquis à Cypéracées (Rivière Blanche et Kopéto), (I) maquis à *Tristaniopsis* spp. (Rivière Blanche et Kopéto), (J) forêt monodominante à *Arillastrum gummiiferum* (Bois du Sud), (K) forêt monodominante à *Nothofagus aequilateralis* (Rivière Blanche et Kopéto), et (L) forêt mixte (Rivière Blanche et Kopéto).

3.1.5.2. Résultats de la méta-analyse

Cette méta-analyse a été réalisée grâce au pipeline Bioindic, en appliquant l'ensemble des étapes décrites précédemment (voir section 3.1.3). Les échantillons ont été, respectivement, raréfiés à 1.231 et 1.292 séquences pour les champignons et bactéries, ce qui porte le nombre total de séquences à 100.942 et 114.988. Ainsi, 82 parcelles pour les champignons et 89 pour les bactéries ont été retenues pour la suite des analyses. Au final, 4.281 et 1.231 ASVs ont été détectés pour les champignons et les bactéries.

Les divers indices de diversité pour l'ensemble des sites et formations végétales sont présentés dans le Tableau 6. Il n'apparaît pas de distinction claire entre les divers types de végétation. Néanmoins, les résultats sur la structure des communautés révèlent certaines tendances (ici, ne sont donnés que ceux obtenus pour les réseaux bipartites) (Figure 16). On retrouve un « effet site » marqué qui avait déjà été établi par Gourmelon et ses collaborateurs (2016). Il apparaît également une structure selon le type de végétation, avec un rapprochement, notamment, entre forêts monominantes à *Nothofagus aequilateralis*, et ce quel que soit le site. Ceci avait également été observé par Gourmelon et al. (2016) sur les champignons et bactéries, ainsi que par Carriconde et al. (2019), se focalisant pour ce dernier sur les champignons ectomycorhiziens. De façon très intéressante, la structure observée sur le plateau de Goro ne change pas (Figures 13 & 16), néanmoins, une similitude apparaît entre les sites restaurés de Goro et des parcelles disposées dans les maquis à Cyperaceae et à *Tristaniopsis spp.* des sites de la Rivière Blanche et de Kopéto, ainsi qu'avec le maquis arbustif de Tiébaghi (uniquement pour les bactéries, pour celui-ci). Ces observations confirment l'existence d'un effet de la couverture végétale en termes de type d'espèces de plantes présentes, comme nous l'avons précédemment spécifié, et de degrés d'ouverture du milieu.

Afin de mieux appréhender la diversité en microorganismes des substrats ultramafiques et les facteurs influençant cette diversité, et ainsi être en mesure d'établir un référentiel, une étude se devra d'être menée à grande échelle sur un plus grand nombre de sites et une plus large gamme de végétation.

Tableau 6 : Indices de diversités calculés à l'aide du pipeline d'analyse Bioindic sur les communautés bactériennes et fongiques pour les 5 sites et 12 types de végétations compris dans la méta-analyse. Les résultats relatifs au groupe externe de Maré ne sont pas présentés. (NS : non significatif)

Microorganism	Site	Formation	Observed ASV (mean ± SE)		Chao index (mean ± SE)		Simpson 1-D (mean ± SE)		Pielou evenness J (mean ± SE)		Shannon H (mean ± SE)		Faith PD (mean ± SE)	
Fungi	BS	RF.Ag	135 ± 17	abcd	161.14 ± 18.64	abc	0.921 ± 0.024	NS	0.747 ± 0.056	NS	5.28 ± 0.50	NS	34.57 ± 2.96	NS
	GO	CLM	212 ± 13	a	265.54 ± 16.92	a	0.966 ± 0.009	NS	0.828 ± 0.028	NS	6.40 ± 0.27	NS	44.90 ± 1.55	NS
	GO	OLM	162 ± 5	abcd	196.38 ± 8.32	abc	0.955 ± 0.007	NS	0.792 ± 0.014	NS	5.81 ± 0.13	NS	41.11 ± 1.47	NS
	GO	RS	160 ± 8	abcd	195.09 ± 13.50	abc	0.962 ± 0.003	NS	0.801 ± 0.011	NS	5.86 ± 0.11	NS	39.68 ± 1.64	NS
	GO	TCM.Fs	204 ± 27	a	282.77 ± 54.64	ac	0.961 ± 0.016	NS	0.829 ± 0.033	NS	6.32 ± 0.36	NS	44.37 ± 4.06	NS
	GO	TCM.Gd	236 ± 15	a	306.81 ± 20.38	a	0.979 ± 0.003	NS	0.852 ± 0.012	NS	6.70 ± 0.17	NS	48.83 ± 3.97	NS
	KO	OHM.C	84 ± 24	bc	91.97 ± 27.44	b	0.926 ± 0.031	NS	0.779 ± 0.053	NS	4.92 ± 0.61	NS	27.11 ± 6.34	NS
	KO	OLM.T	160 ± 26	abcd	187.73 ± 33.39	abc	0.974 ± 0.007	NS	0.860 ± 0.021	NS	6.25 ± 0.34	NS	41.88 ± 5.01	NS
	KO	RF	75 ± 2	c	75.13 ± 2.13	b	0.913 ± 0.046	NS	0.793 ± 0.070	NS	4.93 ± 0.41	NS	22.85 ± 0.51	NS
	KO	RF.Na	105 ± 10	bcd	110.68 ± 10.59	b	0.956 ± 0.012	NS	0.827 ± 0.027	NS	5.54 ± 0.28	NS	30.81 ± 2.07	NS
	RB	OLM.T	89 ± 7	c	96.67 ± 7.35	b	0.929 ± 0.022	NS	0.783 ± 0.034	NS	5.08 ± 0.30	NS	27.01 ± 2.73	NS
	RB	RF	97 ± 14	c	99.75 ± 15.50	bc	0.932 ± 0.037	NS	0.829 ± 0.051	NS	5.46 ± 0.45	NS	29.16 ± 2.86	NS
	RB	RF.Na	98 ± 8	bc	117.72 ± 10.71	bc	0.884 ± 0.043	NS	0.718 ± 0.060	NS	4.76 ± 0.48	NS	25.99 ± 1.84	NS
	TI	CLM	186 ± 21	abcd	214.31 ± 31.89	abc	0.976 ± 0.001	NS	0.872 ± 0.008	NS	6.55 ± 0.010	NS	43.46 ± 2.87	NS
	TI	OLM	211 ± 18	abd	241.35 ± 34.54	abc	0.984 ± 0.003	NS	0.894 ± 0.013	NS	6.89 ± 0.18	NS	47.23 ± 2.49	NS
	TI	TCM	174 ± 24	abcd	198.86 ± 29.79	abc	0.982 ± 0.004	NS	0.888 ± 0.012	NS	6.59 ± 0.28	NS	41.00 ± 4.58	NS
Kruskal-Wallis			1.1e-05		8.8e-06		1.3e-02		4.1e-02		5.9e-04		1.6e-04	
Bacteria	BS	RFAG	53 ± 4	abcde	53.33 ± 3.73	abcdef	0.967 ± 0.004	abc	0.923 ± 0.008	NS	5.29 ± 0.14	abcde	7.21 ± 0.40	def
	GO	CLM	72 ± 9	abc	72.24 ± 9.43	abcd	0.975 ± 0.004	ab	0.935 ± 0.006	NS	5.71 ± 0.21	abc	7.71 ± 0.37	abcd
	GO	OLM	97 ± 13	b	99.60 ± 13.91	b	0.982 ± 0.003	b	0.940 ± 0.003	NS	6.14 ± 0.21	c	8.65 ± 0.73	a
	GO	RS	91 ± 15	bc	92.17 ± 14.74	bd	0.980 ± 0.003	b	0.937 ± 0.005	NS	6.01 ± 0.23	c	9.80 ± 0.62	ab
	GO	TCMFs	85 ± 12	bc	85.89 ± 11.95	bcd	0.975 ± 0.004	ab	0.919 ± 0.008	NS	5.83 ± 0.23	bc	8.54 ± 0.45	abc
	GO	TCMGd	65 ± 10	abce	64.74 ± 9.55	abcdf	0.970 ± 0.005	abc	0.925 ± 0.006	NS	5.50 ± 0.22	abce	7.47 ± 0.68	bcde
	KO	OHMC	37 ± 4	ade	37.00 ± 3.46	aef	0.951 ± 0.006	ac	0.913 ± 0.009	NS	4.74 ± 0.16	abde	5.65 ± 0.12	ef
	KO	OLMT	51 ± 9	abcde	51.00 ± 8.80	abcdef	0.961 ± 0.008	abc	0.918 ± 0.011	NS	5.15 ± 0.28	abcde	5.73 ± 0.76	def
	KO	RF	35 ± 7	ade	35.00 ± 7.19	aef	0.939 ± 0.018	ac	0.906 ± 0.014	NS	4.56 ± 0.39	abde	5.16 ± 0.87	ef
	KO	RFNa	27 ± 9	de	26.50 ± 8.66	ef	0.902 ± 0.036	ac	0.896 ± 0.036	NS	4.05 ± 0.57	ade	3.98 ± 0.91	f
	RB	OHMC	26 ± 4	d	25.50 ± 3.95	ef	0.922 ± 0.018	c	0.904 ± 0.019	NS	4.19 ± 0.29	de	3.52 ± 0.51	f
	RB	OLMT	52 ± 3	abcde	51.75 ± 3.07	abcdef	0.968 ± 0.002	abc	0.928 ± 0.006	NS	5.28 ± 0.10	abcde	6.13 ± 0.16	def
	RB	RF	23 ± 5	de	22.75 ± 4.71	ef	0.888 ± 0.037	c	0.865 ± 0.025	NS	3.82 ± 0.41	d	3.38 ± 0.60	f
	RB	RFNa	45 ± 7	abcde	45.00 ± 6.84	abcdef	0.959 ± 0.007	abc	0.924 ± 0.013	NS	5.04 ± 0.24	abcde	5.44 ± 0.74	def
	TI	CLM	34 ± 7	ade	35.33 ± 7.69	acef	0.935 ± 0.016	ac	0.886 ± 0.015	NS	4.48 ± 0.33	abde	4.85 ± 0.74	ef
	TI	OLM	38 ± 4	acde	38.00 ± 4.16	abcdef	0.956 ± 0.005	abc	0.917 ± 0.009	NS	4.80 ± 0.19	abcde	4.94 ± 0.68	ef
	TI	TCM	61 ± 14	abcde	61.33 ± 13.79	abcdef	0.970 ± 0.007	abc	0.927 ± 0.009	NS	5.42 ± 0.36	abcde	5.59 ± 0.68	cde
Kruskal-Wallis			5.9e-06		6.5e-06		4.6e-05		7.3e-02		1.6e-05		3.1e-06	

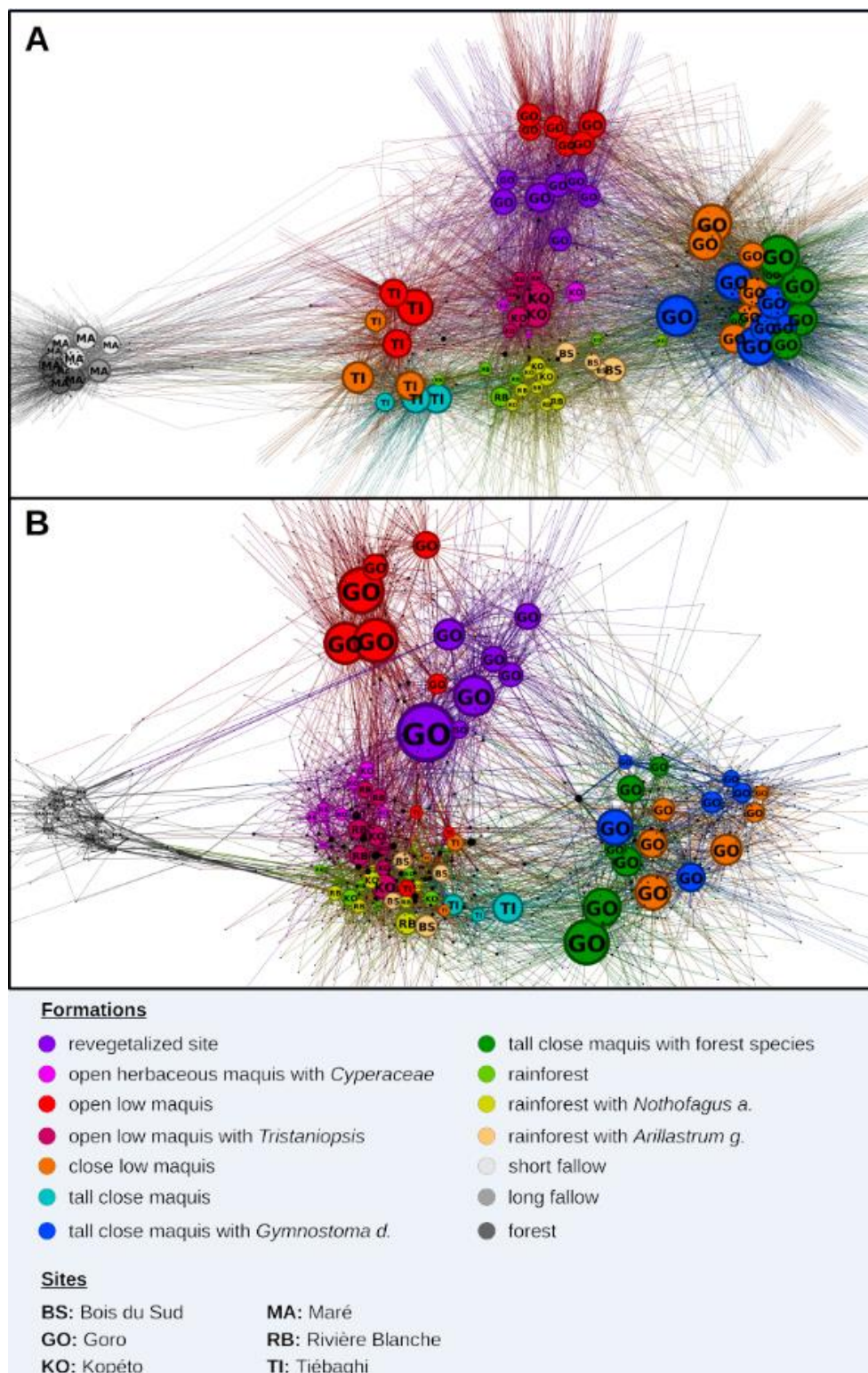


Figure 16 : Réseaux bipartites réalisés sur les (A) communautés fongiques et (B) bactériennes du sol à partir des 5 sites ultramafiques inclus dans la méta-analyse. Les formations de l'île de Maré ont été incluses en tant que groupe externe. Les nœuds représentés en couleurs correspondent aux formations végétales des différents sites d'étude (cf. légende ci-dessus) ; leur taille est proportionnelle au nombre de liens, ici, à la richesse spécifique. Les nœuds figurant en noirs représentent les ASVs ; la taille de ceux-ci est proportionnelle au nombre de connexions dont ils font l'objet.

Finalement, que faut-il retenir sur les communautés fongiques et bactériennes du sol ?

- Le sol a longtemps été considéré comme un simple support, pourvoyeur d'eau et d'éléments minéraux, c'est pourtant bien plus que cela. Il rend de nombreux services résultant en grande partie d'interactions multiples entre les organismes qui y sont présents et leur environnement.
- Des travaux ont montré que les communautés de microorganismes du sol changent selon les conditions environnementales dans lesquelles elles se trouvent. Leur capacité à répondre rapidement aux changements environnementaux fait des microorganismes de potentiels bons indicateurs biologiques de l'état des écosystèmes.
- Les nouvelles approches de séquençage en masse, également appelées séquençage haut-débit, *via* l'extraction d'ADN environnemental (ADNe) du sol, permettent d'accéder à ces communautés de microorganismes dans des proportions, il y a peu, encore inimaginables.
- Depuis 2017, dans le monde seules trois études (réalisées en Australie et au Brésil) ont couplé séquençage en masse de l'ADNe, microorganismes du sol, et problématique de restauration écologique, et aucune ne s'est intéressée aux substrats ultramafiques. Ces travaux ont illustré le vif intérêt que pourrait avoir le couplage des questions de restauration à ces techniques et ces organismes.
- Le présent travail mené dans le cadre du projet de recherche CNRT Bioindic, montre sans ambiguïté des changements des communautés fongiques et bactériennes le long de la chronoséquence de référence, ainsi qu'au niveau des cinq sites revégétalisés sélectionnés du plateau de Goro.
- Les analyses ont été permises grâce au développement d'un pipeline d'analyse rendu libre d'accès (https://gitlab.com/IAC_SolVeg/CNRT_BIOINDIC).
- Les indices de diversité, tels que la richesse observée (le nombre d'ASVs) et la richesse attendue présentent des valeurs plus ou moins marquées, et ne constituent donc pas de bons indicateurs en tant que tels.
- Les ratios basés sur les phyla, plus précisément les rapports Ascomycètes:Basidiomycètes pour les champignons, et Cynaobactéries:Chloroflexi pour les bactéries, ainsi que le ratio fondé sur l'identification des groupes fonctionnels, Saprophytes:Symbiotiques pour les communautés fongiques, représentent tous trois de bons bioindicateurs d'état des milieux, dans le cas présent, de l'état de la restauration écologique.
- L'ensemble des analyses de structure des communautés microbiennes met en avant l'existence de communautés distinctes. Ceci traduit la présence de différentes espèces jouant très probablement les mêmes rôles fonctionnels. Cet aspect est à mettre au regard des objectifs de restauration qui ont été au préalable définis.
- Finalement, les sites revégétalisés A2 et C, se rapprochant des milieux fermés, montrent un plus grand succès de restauration que les sites A1, A3 et B, plus similaires, eux, au maquis ouvert.
- Ainsi, les microorganismes du sol, *via* une approche d'ADNe et de métabarcoding, figurent être d'excellents bioindicateurs de la restauration écologique.

En chiffre :

- 124 échantillons de sol.
- Environ 37 millions de lectures (*i.e.* séquences) appariées, soit 74 millions de séquences, au total.
- Après application des filtres lors de l'analyse : 372.940 et 488.007 séquences retenues pour les champignons et bactéries, respectivement.
- 3.221 ASVs de champignons et 4.171 ASVs de bactéries détectées ; les ASVs pouvant être assimilés à des espèces moléculaires.
- Ratio Ascomycètes:Basidiomycètes > 1 dans les milieux ouverts et < 1 dans les milieux fermés de référence ; ce rapport s'inverse pour le ratio Symbiotrophes:Saprotrophes.
- Une méta-analyse pour un référentiel de l'ultramafisme conduite sur 5 sites distincts en Nouvelle-Calédonie et 12 formations végétales, donnant au total 4.281 ASVs pour les champignons et 1.651 ASVs pour les bactéries.

3.1.6. PERSONNEL NON-PERMANENT ET PRODUCTION SCIENTIFIQUE

Liste des Volontaires au Service Civique ayant participé et été financés par le projet CNRT Bioindic sur la partie diversité microbienne du sol :

- Mélanie LELIEVRE, niveau assistant ingénieur (8 mois ; 2016-2017) ;
- Nicolas FERNANDEZ NUNEZ, niveau ingénieur (14 mois, 2017-2019) ;
- Julie RI POLL, niveau doctorat (2 mois, 2018-2019).

Liste des articles en cours de préparation :

Fernandez Nunez, N., Maggia, L., Lelievre, M., Letellier, K., Gigante, S., Manez, A., Mournet, P., Ripoll, J., Carriconde, F. Soil fungal and bacterial metabarcoding: excellent bioindicators for ecological restoration in the New Caledonian biodiversity hotspot context. Soumis à Ecological Engineering.

Carriconde, F., Ripoll, J., Fernandez Nunez, N., Demenois, J., Gourmelon, V., Letellier, K., Robert, N., Drouin, J., Manez, A., Mournet, P., Maggia, L. A meta-analysis of ultramafic soil microbial metagenomic datasets in New Caledonia: towards a referential system in an ecological restoration context? Journal visé: Ecological Engineering.

3.1.7. REFERENCES

Amir, H., Ducouso, M., 2010. Les bactéries et les champignons du sol sur roches ultramafiques, in: Mines et Environnement En Nouvelle-Calédonie : Les Milieux Sur Substrats

Ultramaïfiques et Leur Restauration. Laurent L'Huillier, Tanguy Jaffré, Adrien Wulff, Nouméa, Nouvelle-Calédonie, pp. 129–145.

Andrews, S., 2010. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data.

Araújo, A.S.F., Borges, C.D., Tsai, S.M., Cesarz, S., Eisenhauer, N., 2014. Soil bacterial diversity in degraded and restored lands of Northeast Brazil. *Antonie Van Leeuwenhoek* 106, 891–899. <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0258-5>

Aronesty, E., 2011. ea-utils : “Command-line tools for processing biological sequencing data.”

Avis, P.G., Gaswick, W.C., Tonkovich, G.S., Leacock, P.R., 2017. Monitoring fungi in ecological restorations of coastal Indiana, U.S.A.: Monitoring macrofungi. *Restor. Ecol.* 25, 92–100. <https://doi.org/10.1111/rec.12397>

Barton, H.A., Giarrizzo, J.G., Suarez, P., Robertson, C.E., Broering, M.J., Banks, E.D., Vaishampayan, P.A., Venkateswaran, K., 2014. Microbial diversity in a Venezuelan orthoquartzite cave is dominated by the Chloroflexi (Class Ktedonobacterales) and Thaumarchaeota Group I.1c. *Front. Microbiol.* 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00615>

Bastian, M., Heymann, S., Jacomy, M., 2009. Gephi: An Open Source Software for Exploring and Manipulating Networks.

Bouchez, T., Blieux, A.L., Dequiedt, S., Domaizon, I., Dufresne, A., Ferreira, S., Godon, J.J., Hellal, J., Joulain, C., Quaiser, A., Martin-Laurent, F., Mauffret, A., Monier, J.M., Peyret, P., Schmitt-Koplin, P., Sibourg, O., D'oiron, E., Bispo, A., Deportes, I., Grand, C., Cuny, P., Maron, P.A., Ranjard, L., 2016. Molecular microbiology methods for environmental diagnosis. *Environ. Chem. Lett.* 14, 423–441. <https://doi.org/10.1007/s10311-016-0581-3>

Bulot, A., Provost, E., Dutoit, T., 2014. A comparison of different soil transfer strategies for restoring a Mediterranean steppe after a pipeline leak (La Crau plain, South-Eastern France). *Ecol. Eng.* 71, 690–702. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.07.060>

Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Holmes, S.P., 2017. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *ISME J.* 11, 2639–2643. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.119>

Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K., Fierer, N., Peña, A.G., Goodrich, J.K., Gordon, J.I., Huttley, G.A., Kelley, S.T., Knights, D., Koenig, J.E., Ley, R.E., Lozupone, C.A., McDonald, D., Muegge, B.D., Pirrung, M., Reeder, J., Sevinsky, J.R., Turnbaugh, P.J., Walters, W.A., Widmann, J., Yatsunenko, T., Zaneveld, J., Knight, R., 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat. Methods* 7, 335–336. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>

Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C.A., Turnbaugh, P.J., Fierer, N., Knight, R., 2011. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 4516–4522. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000080107>

Carriconde, F., Gardes, M., Bellanger, J.-M., Letellier, K., Gigante, S., Gourmelon, V., Ibanez, T., McCoy, S., Goxe, J., Read, J., Maggia, L., 2019. Host effects in high ectomycorrhizal

diversity tropical rainforests on ultramafic soils in New Caledonia. *Fungal Ecol.* 39, 201–212. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2019.02.006>

Chao, A., Gotelli, N.J., Hsieh, T.C., Sander, E.L., Ma, K.H., Colwell, R.K., Ellison, A.M., 2014. Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. *Ecol. Monogr.* 84, 45–67. <https://doi.org/10.1890/13-0133.1>

Chenot, J., Jaunatre, R., Buisson, E., Dutoit, T., 2017. Long-term effects of topsoil transfer assessed thirty years after rehabilitation of dry alluvial quarries in Southeastern France. *Ecol. Eng.* 99, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.11.010>

Clemmensen, K.E., Finlay, R.D., Dahlberg, A., Stenlid, J., Wardle, D.A., Lindahl, B.D., 2015. Carbon sequestration is related to mycorrhizal fungal community shifts during long-term succession in boreal forests. *New Phytol.* 205, 1525–1536. <https://doi.org/10.1111/nph.13208>

Cutler, N.A., Chaput, D.L., van der Gast, C.J., 2014. Long-term changes in soil microbial communities during primary succession. *Soil Biol. Biochem.* 69, 359–370. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.11.022>

Demenois, J., 2017. Quelle influence des symbioses mycorhiziennes et des traits racinaires sur l'érosion des sols tropicaux ? Application à la restauration écologique des écosystèmes forestiers dégradés de Nouvelle-Calédonie sur Ferralsols développés sur substrats ultramafiques. Université Montpellier, Montpellier, France.

Demenois, J., Ibanez, T., Read, J., Carriconde, F., 2017. Comparison of two monodominant species in New Caledonia: floristic diversity and ecological strategies of *Arillastrum gummiferum* (Myrtaceae) and *Nothofagus aequilateralis* (Nothofagaceae) rainforests. *Aust. J. Bot.* <https://doi.org/10.1071/BT16125>

Demenois, J., Merino-Martín, L., Fernandez Nuñez, N., Stokes, A., Carriconde, F., 2020. Do diversity of plants, soil fungi and bacteria influence aggregate stability on ultramafic Ferralsols? A metagenomic approach in a tropical hotspot of biodiversity. *Plant Soil* 448, 213–229.

Ewels, P., Magnusson, M., Lundin, S., Käller, M., 2016. MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinformatics* 32, 3047–3048. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw354>

Faure, D., Joly, D., 2016. La génomique environnementale : la révolution du séquençage à haut débit. ISTE Editions, London.

Galan, M., Razzauti, M., Bard, E., Bernard, M., Brouat, C., Charbonnel, N., Dehne-Garcia, A., Loiseau, A., Tatard, C., Tamisier, L., Vayssier-Taussat, M., Vignes, H., Cosson, J.-F., 2016. 16S rRNA Amplicon Sequencing for Epidemiological Surveys of Bacteria in Wildlife. *mSystems* 1. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00032-16>

Garris, H.W., Baldwin, S.A., Van Hamme, J.D., Gardner, W.C., Fraser, L.H., 2016. Genomics to assist mine reclamation: a review: Genomics and mine reclamation. *Restor. Ecol.* 24, 165–173. <https://doi.org/10.1111/rec.12322>

Gastauer, M., Vera, M.P.O., de Souza, K.P., Pires, E.S., Alves, R., Caldeira, C.F., Ramos, S.J., Oliveira, G., 2019. A metagenomic survey of soil microbial communities along a

rehabilitation chronosequence after iron ore mining. *Sci. Data* 6. <https://doi.org/10.1038/sdata.2019.8>

Gellie, N.J.C., Mills, J.G., Breed, M.F., Lowe, A.J., 2017. Revegetation rewilds the soil bacterial microbiome of an old field. *Mol. Ecol.* 26, 2895–2904. <https://doi.org/10.1111/mec.14081>

Gourmelon, V., 2016. Formations végétales et diversité microbienne des substrats ultramafiques en Nouvelle-Calédonie, implication pour la conservation et la restauration écologique. Université de la Nouvelle-Calédonie, Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

Gourmelon, V., Maggia, L., Powell, J.R., Gigante, S., Hortal, S., Gueunier, C., Letellier, K., Carriconde, F., 2016. Environmental and geographical factors structure soil microbial diversity in New Caledonian ultramafic substrates: a metagenomic approach. *PLoS One* 11, e0167405.

Hsieh, T.C., Ma, K.H., Chao, A., 2016. iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers). *Methods Ecol. Evol.* 7, 1451–1456. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12613>

Ihrmark, K., Bödeker, I.T.M., Cruz-Martinez, K., Friberg, H., Kubartova, A., Schenck, J., Strid, Y., Stenlid, J., Brandström-Durling, M., Clemmensen, K.E., Lindahl, B.D., 2012. New primers to amplify the fungal ITS2 region - evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* 82, 666–677. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01437.x>

Jacomy, M., Venturini, T., Heymann, S., Bastian, M., 2014. ForceAtlas2, a Continuous Graph Layout Algorithm for Handy Network Visualization Designed for the Gephi Software. *PLoS ONE* 9, e98679. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098679>

Jangid, K., Whitman, W.B., Condron, L.M., Turner, B.L., Williams, M.A., 2013. Soil bacterial community succession during long-term ecosystem development. *Mol. Ecol.* 22, 3415–3424. <https://doi.org/10.1111/mec.12325>

Jaunatre, R., Buisson, E., Muller, I., Morlon, H., Mesléard, F., Dutoit, T., 2013. New synthetic indicators to assess community resilience and restoration success. *Ecol. Indic.* 29, 468–477. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.01.023>

Joshi, N., Fass, J., 2011. Sickel: A sliding-window, adaptive, quality-based trimming tool for FastQ files.

Knelman, J.E., Legg, T.M., O'Neill, S.P., Washenberger, C.L., González, A., Cleveland, C.C., Nemergut, D.R., 2012. Bacterial community structure and function change in association with colonizer plants during early primary succession in a glacier forefield. *Soil Biol. Biochem.* 46, 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.12.001>

Kuske, C.R., Yeager, C.M., Johnson, S., Ticknor, L.O., Belnap, J., 2012. Response and resilience of soil biocrust bacterial communities to chronic physical disturbance in arid shrublands. *ISME J.* 6, 886–897. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.153>

L'Huillier, L., Jaffré, T., 2010. L'exploitation des minerais de Nickel en Nouvelle-Calédonie, in: *Mines et Environnement En Nouvelle-Calédonie : Les Milieux Sur Substrats Ultramafiques et*

Leur Restauration. Laurent L'Huillier, Tanguy Jaffré, Adrien Wulff, Nouméa, Nouvelle-Calédonie, pp. 21–31.

Martin, M., 2011. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal* 17, 10. <https://doi.org/10.14806/ej.17.1.200>

McDonald, T., Jonson, J., Dixon, K.W., 2016. National standards for the practice of ecological restoration in Australia: National restoration standards, Australia. *Restor. Ecol.* 24, S4–S32. <https://doi.org/10.1111/rec.12359>

McGuire, K.L., 2014. The contribution of ectomycorrhizal fungal feedbacks to the maintenance of tropical monodominant rain forests, in: *Ectomycorrhizal Symbioses in Tropical and Neotropical Forests*. Amadou M. Bâ, Krista L. McGuire, Abdala G. Diédhiou, Boca Raton, pp. 185–199.

MEA, 2004. Biodiversity, in: *Millenium Ecosystem Assessment*.

Nara, K., Nakaya, H., Wu, B., Zhou, Z., Hogetsu, T., 2003. Underground primary succession of ectomycorrhizal fungi in a volcanic desert on Mount Fuji. *New Phytol.* 159, 743–756. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00844.x>

Nearing, J.T., Douglas, G.M., Comeau, A.M., Langille, M.G.I., 2018. Denoising the Denoisers: an independent evaluation of microbiome sequence error-correction approaches. *PeerJ* 6, e5364. <https://doi.org/10.7717/peerj.5364>

Nemergut, D.R., Anderson, S.P., Cleveland, C.C., Martin, A.P., Miller, A.E., Seimon, A., Schmidt, S.K., 2007. Microbial Community Succession in an Unvegetated, Recently Deglaciaded Soil. *Microb. Ecol.* 53, 110–122. <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9144-7>

Nguyen, N.H., Song, Z., Bates, S.T., Branco, S., Tedersoo, L., Menke, J., Schilling, J.S., Kennedy, P.G., 2016. FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecol.* 20, 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.06.006>

Oksanen, J., Blanchet, Kindt, R., Legendre, P., O'Hara, B., Simpson, G., Solymos, P., Stevens, M., Wagner, H., 2011. *Vegan: community ecology package*.

Pilon, N.A.L., Buisson, E., Durigan, G., 2018. Restoring Brazilian savanna ground layer vegetation by topsoil and hay transfer: Brazilian savanna ground layer restoration. *Restor. Ecol.* 26, 73–81. <https://doi.org/10.1111/rec.12534>

R Core Team, 2014. *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Ruppert, K.M., Kline, R.J., Rahman, M.S., 2019. Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding: A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA. *Glob. Ecol. Conserv.* 17, e00547. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00547>

Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., Sahl, J.W., Stres, B., Thallinger, G.G., Van

Horn, D.J., Weber, C.F., 2009. Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 7537–7541. <https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09>

Shah, F., Nicolás, C., Bentzer, J., Ellström, M., Smits, M., Rineau, F., Canbäck, B., Floudas, D., Carleer, R., Lackner, G., Braesel, J., Hoffmeister, D., Henrissat, B., Ahrén, D., Johansson, T., Hibbett, D.S., Martin, F., Persson, P., Tunlid, A., 2016. Ectomycorrhizal fungi decompose soil organic matter using oxidative mechanisms adapted from saprotrophic ancestors. *New Phytol.* 209, 1705–1719. <https://doi.org/10.1111/nph.13722>

Tarlera, S., Jangid, K., Ivester, A.H., Whitman, W.B., Williams, M.A., 2008. Microbial community succession and bacterial diversity in soils during 77 000 years of ecosystem development: Microbial community succession in soils. *FEMS Microbiol. Ecol.* 64, 129–140. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00444.x>

Trivedi, P., Delgado-Baquerizo, M., Anderson, I.C., Singh, B.K., 2016. Response of Soil Properties and Microbial Communities to Agriculture: Implications for Primary Productivity and Soil Health Indicators. *Front. Plant Sci.* 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00990>

van der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.D., van Straalen, N.M., 2008. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.* 11, 296–310. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>

White, T., Bruns, T.D., Lee, S., Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for polygenetics, in: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ, New York, USA, pp. 315–322.

Yan, D., Mills, J.G., Gellie, N.J.C., Bissett, A., Lowe, A.J., Breed, M.F., 2018. High-throughput eDNA monitoring of fungi to track functional recovery in ecological restoration. *Biol. Conserv.* 217, 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.10.035>

Zak, D.R., Pellitier, P.T., Argiroff, W., Castillo, B., James, T.Y., Nave, L.E., Averill, C., Beidler, K.V., Bhatnagar, J., Blesh, J., Classen, A.T., Craig, M., Fernandez, C.W., Gundersen, P., Johansen, R., Koide, R.T., Lilleskov, E.A., Lindahl, B.D., Nadelhoffer, K.J., Phillips, R.P., Tunlid, A., 2019. Exploring the role of ectomycorrhizal fungi in soil carbon dynamics. *New Phytol.* 223, 33–39. <https://doi.org/10.1111/nph.15679>

3.2. FONCTIONNALITE DES ENDOMYCORHIZES

3.2.1. ELEMENTS D'INTRODUCTION

La symbiose mycorhizienne a permis la colonisation des espaces terrestres par les plantes en leur permettant de se fournir plus aisément en nutriments minéraux, souvent insolubles dans les sols et en eau (Le Tacon & Sélosse, 1997). Les mycorhizes les plus répandues concernent les champignons endomycorhiziens à arbuscules (CMA) qui forment des associations avec plus de 80% des plantes vasculaires (Smith & Read, 2008). Cette symbiose mycorhizienne apporte aux champignons les sucres et les composés carbonés issus de la photosynthèse de la plante (Smith & Read, 2008). En contre-partie, les champignons endomycorhiziens jouent différents rôles bénéfiques pour la plante. Dans un premier temps, ils absorbent les éléments nutritifs tels que le phosphore, l'azote, le potassium, le zinc et les retransmettent à la plante hôte (Smith & Read, 2008). Dans un second temps, les réseaux d'hyphes fongiques constituent un prolongement racinaire dans le sol qui permet d'élargir la surface d'approvisionnement en eau de la plante (Smith & Read, 2008). Il a également été montré que les CMA limitent l'accès des pathogènes au niveau des racines et constituent alors une ligne de défense pour l'hôte (Borowicz, 2001; Wehner et al., 2011). Enfin, ils pourraient contribuer à la tolérance de la plante au nickel en séquestrant les métaux toxiques au niveau racinaire (Hildebrandt et al., 2007) ou directement dans le sol, en sécrétant la glomaline (González-Chávez et al., 2004; Hammer & Rillig, 2011). La coopération avec des CMA permet ainsi à la plante de mieux s'adapter et croître sur un sol pollué ou naturellement riche en métaux (Amir et al., 2014a, 2013). Toutes ces fonctions représentent autant d'atouts et d'avantages qui s'avèrent intéressants à exploiter pour la restauration des terrains miniers.

Pourtant, malgré ces aspects positifs, peu d'informations sont disponibles sur la diversité des champignons endomycorhiziens en général et dans le contexte néo-calédonien en particulier. Actuellement, seules 240 espèces de CMA environ ont été recensées et caractérisées dans le monde (Oehl et al., 2011). Tous les champignons endomycorhiziens appartiennent à la classe des gloméromycètes qui constitue un groupe monophylétique (Schüßler et al., 2001). La classification la plus récente (Redecker et al., 2013; Schüßler & Walker, 2010) répartit ces 230 espèces dans 4 ordres (I) les Glomérales comprenant principalement les genres *Glomus*, *Funneliformis*, *Rhizophagus*, *Sclerocystis* et *Claroideoglomus* (II) les Diversisporales comprenant principalement les genres *Redeckera*, *Diversispora*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Racocetra* et *Pacispora*, (III) les Archaesporales dominées par trois genres, *Geosiphon*, *Ambispora* et *Archaeospora* et enfin (IV), les Paraglomérales constitués du genre, *Paraglomus* (Figure 17).

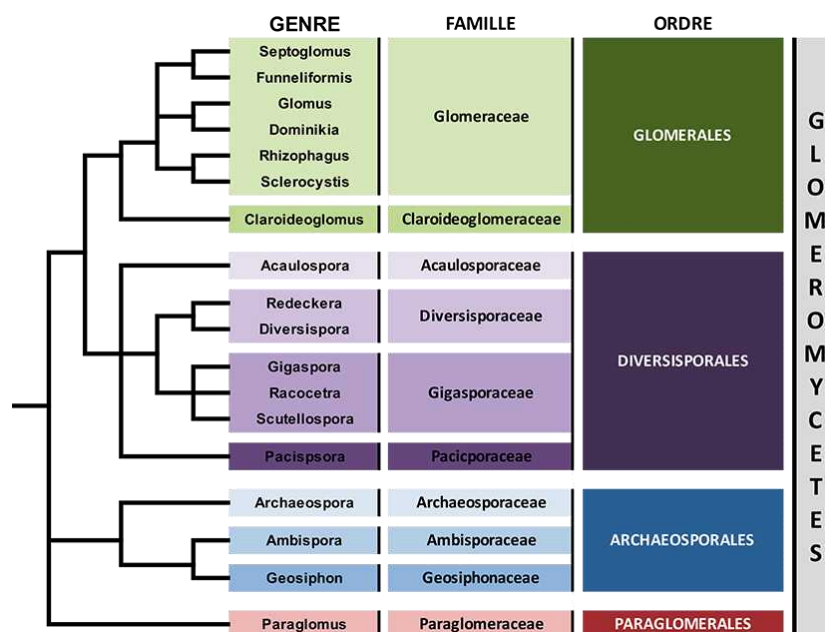


Figure 17 : Phylogénie simplifiée des Champignons Mycorhiziens à Arbuscules. Cette phylogénie est adaptée de (Redecker et al., 2013) et présente les différents genres, familles et ordres des Gloméromycètes.

À ce jour, il n'existe que peu d'études sur la diversité des CMA dans les sols ultramafiques (Fitzsimons & Miller, 2010; Perrier et al., 2006; Schechter & Bruns, 2012; Zarei et al., 2010). Il est néanmoins établi que les conditions édaphiques participent grandement à la structuration des populations de microorganismes (Öpik et al., 2006; Zarei et al., 2010). De plus, la diversité des CMA est garante de l'équilibre microbiologique et de la résilience des communautés. Différents travaux ont montré que l'efficacité de la symbiose dépend aussi de cette diversité (Crossay et al., 2019; Maherali & Klironomos, 2007).

La connaissance des mécanismes de mise en place des **assemblages fongiques** permettra de mieux choisir les espèces de champignons à utiliser pour la restauration écologique des milieux dégradés, mais permettra également de mesurer l'état de dégradation des écosystèmes en permettant la définition d'indicateurs adaptés.

Ce chapitre comporte deux parties distinctes et complémentaires : i) l'analyse par séquençage à haut débit de la diversité des CMA dans les différents échantillons de sols restaurés et de sols des milieux naturels de référence, afin de comparer leurs diversités (voir section 3.2.2) ; ii) deux expériences en serre visant à évaluer l'efficacité de la symbiose produite par des CMA issus de sol restauré, en comparaison avec la même symbiose induite par des CMA issus d'un milieu naturel adjacent (voir section 3.2.3).

3.2.2. DIVERSITE DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS A ARBUSCULES

3.2.2.1. MATERIELS ET METHODES

Afin de pouvoir croiser nos données avec celles relatives aux bactéries et champignons totaux (se référer à la section 3.1), les mêmes extractions d'ADN ont été utilisées pour l'amplification spécifique de l'ADN des CMA (section 3.1.2). La détection de l'ADN des CMA dans une approche globale est souvent rendue complexe du fait de la faible biomasse de ces CMA dans le sol et au fait que ces champignons sont des symbiontes obligatoires. Des études précédentes ont montré la faible représentation des séquences représentatives des Glomérormycètes dans les analyses métagénomiques à partir de sol total (Bordez et al., 2016; Gourmelon et al., 2016). De plus, si l'analyse des séquences des ITS de l'ADNr est classiquement admise pour étudier la diversité fongique dans les écosystèmes, celles-ci sont de très mauvaises candidates pour l'étude des Glomérormycètes (Schoch et al., 2012).

Pour contourner ces difficultés, nous avons réalisé une PCR nichée afin d'amplifier de manière spécifique un fragment de l'ADNr 18S. La première PCR utilise les amorces AML1 et AML2 dans les conditions décrites par les auteurs (Lee et al., 2008). Le fragment ainsi obtenu sert alors de matrice pour une seconde PCR réalisée avec les amorces internes AM1 et NS31 (Helgason et al., 1999; Simon et al., 1992) (Figure 18). La région ciblée est celle qui est couramment séquencée chez les CMA (Morgan & Egerton-Warburton, 2017). Cette double amplification permet de ne synthétiser que des séquences de Glomérormycètes. Lors de la seconde PCR, les ancrs Illumina R1 (TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG) et R2 (GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG) ont été ajoutées en 5' de chacune des amorces AM1 et NS31 respectivement.

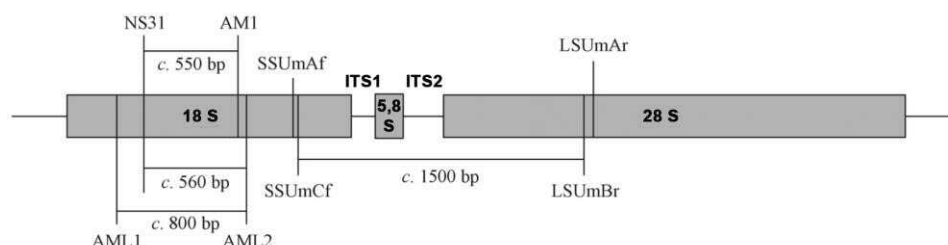


Figure 18 : ADNr et localisation des amorces utilisées pour amplifier le fragment séquencé dans cette analyse.

Les amplicons ont été vérifiés par électrophorèse et envoyés pour séquençage à la Plateforme de Génomique Environnementale et Humaine de Rennes qui a réalisé la confection des banques d'amplicons et l'ajout des index pour le multiplexage. Le séquençage Illumina MiSeq paired-end 2x250 pb a été réalisé par la plateforme (<https://geh.univ-rennes1.fr/>).

Les données issues du séquençage ne pouvant pas être contiguës sur le fragment analysé qui a une taille supérieure à 500 pb, seul le côté NS31, représentant la région la plus polymorphe de l'amplicon, a été analysé. L'analyse a été réalisée avec le même pipeline « BioIndic » décrit dans la section 3.1.3. L'assignation taxonomique des ASVs a été réalisée en comparant les séquences de référence avec la base de données SILVA (<https://www.arb-silva.de/>). Une analyse plus fine a été conduite en réalisant un arbre phylogénétique avec les

séquences de références et une base de séquences d'ADNr 18S de CMA, bornée par les séquences AM1 et NS31 réalisée au laboratoire.

3.2.2.2. Diversité des CMA dans les sols

3.2.2.2.1. Données préliminaires

Sur les 124 sous-parcelles, seules 120 ont pu donner des amplicons séquençables. Les sous-parcelles 91_MD_2, 91_MD_3, 135_MP_3 et 159_MP_1 n'ont pas donné d'ADN exploitable en séquençage.

À partir des 120 sous-parcelles nous avons pu obtenir 4 744 865 séquences exploitables. Après élimination des séquences de taille incorrecte ou contenant trop d'erreurs, 4 429 429 séquences ont été retenues. Chaque sous-parcelle présentant un nombre de séquences conservées allant de 18 615 (346_MAO_3) à 71 823 (347_MD_4). Après normalisation des échantillons, seules les séquences présentes dans au moins 2 sous-parcelles ont été retenues afin d'éviter les biais liés aux erreurs de PCR. Ces séquences, au nombre de 1 671 993 ont pu être regroupées en 188 ASVs (Amplicon Sequence Variant ; Callahan et al., 2017) qui se répartissent dans 111 sous-parcelles (Figure 19).

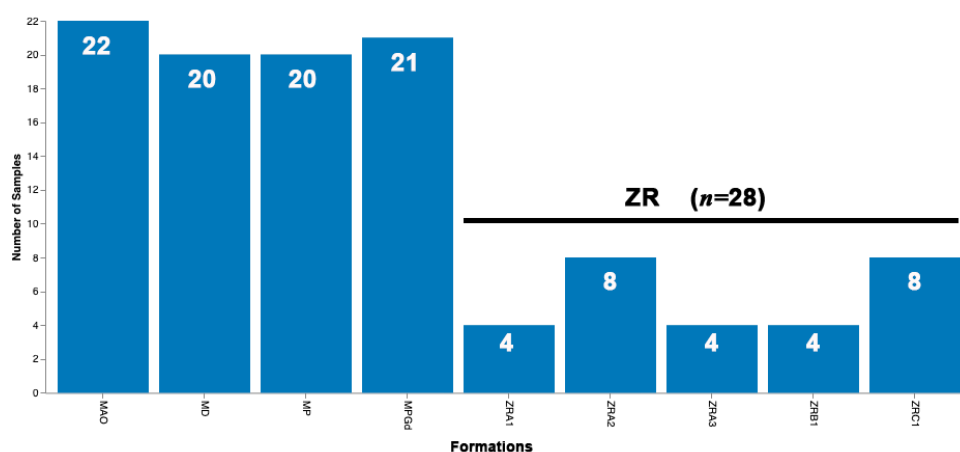


Figure 19 : Nombre de sous-parcelles retenues pour cette étude. Pour chaque formation analysée (MAO : Maquis Arbustif Ouvert, MD : Maquis Dense, MP : Maquis Paraforestier, MPGd : Maquis Paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum*, ZR : Zone Restaurée, A1, A2, A3 correspondent aux sites de l'ancienne pépinière, B et C correspondent aux sites de Kuebini et Cofremi, respectivement), le nombre de sous-parcelles comprenant des ASVs significativement retenus est indiqué.

3.2.2.2.2. Analyse quantitative de la diversité en CMA

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés aux valeurs de diversité observées dans les différentes formations. Comme énoncé plus haut, 188 ASVs ont été observés. Parmi eux, 78 ont été détectés dans des parcelles de Maquis Arbustif Ouvert (MAO), 72 dans les sols de Maquis Denses (MD), 93 dans les sols de Maquis Paraforestiers (MP) et 104 dans ceux des Maquis Paraforestiers à *Gymnostoma deplancheanum* (MPGd). On observe donc une diversité croissante dans les milieux les plus fermés (MPGd) par rapport aux milieux les plus ouverts (MAO), comme cela a pu être observé avec les espèces de champignons dans

la partie précédente. Cet élément se confirme si l'on observe la richesse globale en ASV ainsi que l'indice de Chao1 dans ces 4 formations (Figure 20). Les valeurs différentes en nombres d'ASV tiennent au fait que dans cette figure, la valeur moyenne d'ASV est mesurée dans chaque parcelle et non la somme globale, comme indiqué au-dessus.

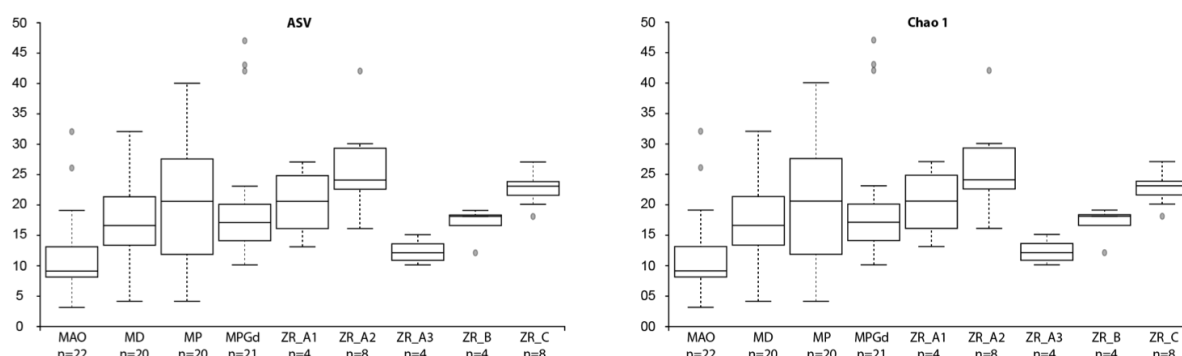


Figure 20 : Richesse moyenne en CMA dans chaque parcelle des différentes formations. Les valeurs moyennes en ASV sont représentées (ASV) ainsi que l'indice de Cha1 (Chao1) pour les formations naturelles (MAO : Maquis Arbustif Ouvert ; MD : Maquis Dense ; MP : Maquis Paraforestier ; MPGd : Maquis Paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum*) ou des zones restaurées (ZR) (A1, A2 et A3 : Ancienne pépinière ; B : Kuebini ; C : Cofremi). n indique le nombre de parcelles prises en compte.

On peut observer que dans les zones restaurées, la richesse relative est très variable d'un site à l'autre. Notamment sur le site de l'ancienne pépinière (parcelles A1 et A2), on observe des valeurs proches, voire supérieures à celles observées dans les milieux naturels, même fermés. Par contre, la parcelle A3 présente une richesse en CMA beaucoup plus basse, voisine de celle observée dans les milieux ouverts (ZR_A3 et MAO, Figure 20).

Si l'on se réfère maintenant aux nombres totaux d'ASV observés dans les différentes formations, la diversité totale reste néanmoins beaucoup plus basse dans les parcelles correspondant aux zones restaurées : 38 ASVs détectés dans les sous-parcelles A1, 75 dans les sous-parcelles A2, 27 dans les sous-parcelles A3, 36 dans les sous-parcelles B et 62 dans les sous-parcelles C. On constate néanmoins que les sous-parcelles les plus nombreuses (A2 et C avec n=8 contre les autres avec n=4), montrent les nombres d'ASV les plus importants. Cela indique que nous n'avons pas atteint la saturation dans la détection des séquences caractéristiques.

L'observation des indices de diversité (Shannon, Simpson, équitabilité de Pielou et Faith) confirme ces observations (Figure 21). On observe une fois encore une diversité importante en CMA pour les parcelles restaurées A1 et A2. Les formations ouvertes (MAO) présentent des indices de diversité plus bas que ceux observés dans les formations fermées (MP et MPGd), mais ce qui est surtout caractéristique est la dispersion que l'on observe dans les formations « ouvertes », ce qui montre des variations locales importantes.

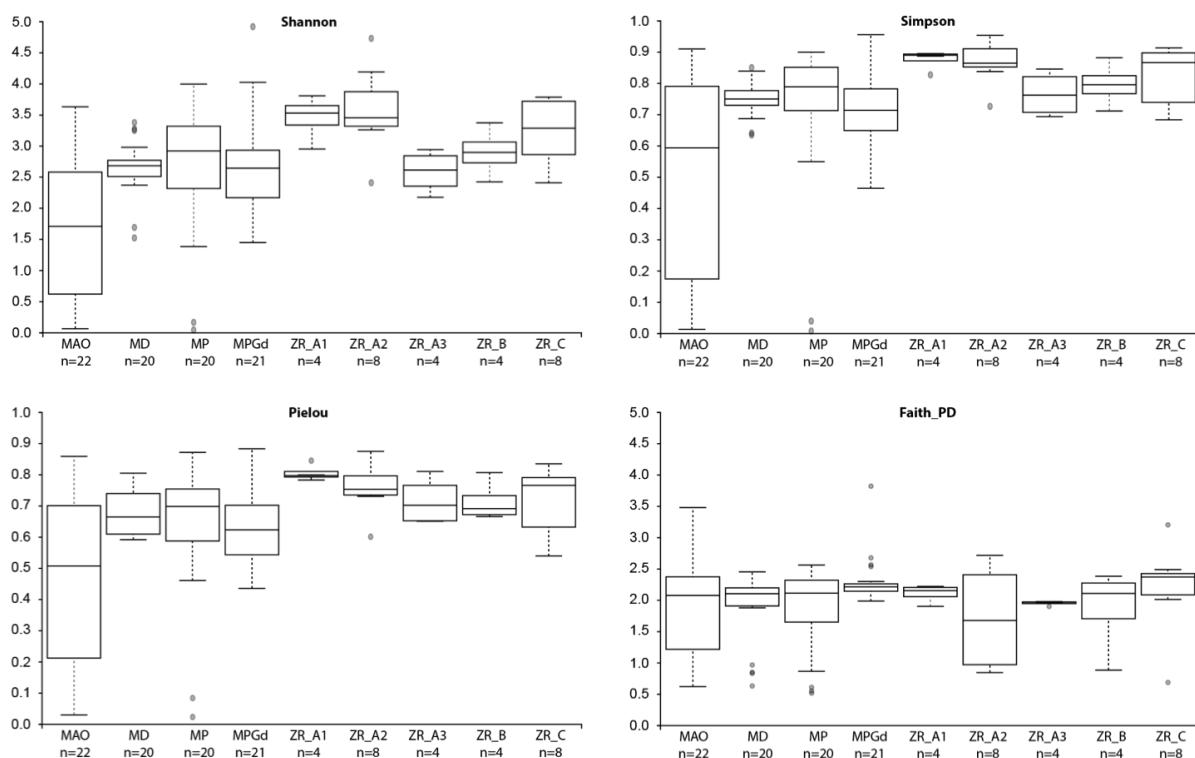


Figure 21 : Indices de diversité dans les différentes formations analysées. Sur cette figure sont représentées les indices de biodiversité de Shannon, Simpson, l'équitabilité (indice de Pielou) et FD (Faith) sont représentés pour les formations naturelles (MAO : Maquis Arbustif Ouvert ; MD : Maquis Dense ; MP : Maquis Paraforestier ; MPGd : Maquis Paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum*) ou des zones restaurées (ZR) (A1, A2 et A3 : Ancienne pépinière ; B : Kuebini ; C : Cofremi). n indique le nombre de parcelles prises en compte.

3.2.2.2.3. Aspects qualitatifs de la diversité en CMA

Outre la richesse relative ou absolue observée dans les sols des diverses formations végétales naturelles ou restaurées, il convient de s'intéresser aux données qualitatives de cette diversité. Pour répondre à cette question, nous avons identifié à quel phylum pouvait appartenir les ASVs identifiés. Un premier crible a été effectué en comparant les séquences des ASVs à la banque d'ADNr 18S SILVA. Cette première approche a été réalisée en établissant un arbre phylogénétique en incluant aux séquences des ASVs, des séquences publiées et disponibles dans GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Cette banque de séquences a été préparée au laboratoire et a été renforcée avec les séquences données comme des séquences de référence (Krüger et al., 2012).

Pour illustration, la phylogénie des Glomeraceae est représentée sur l'arbre phylogénétique présenté dans la Figure 22. Le reste de l'arbre n'est pas donné pour ne pas charger ce document. Un résumé des résultats de l'assignation taxonomique est donné dans la Figure 23.

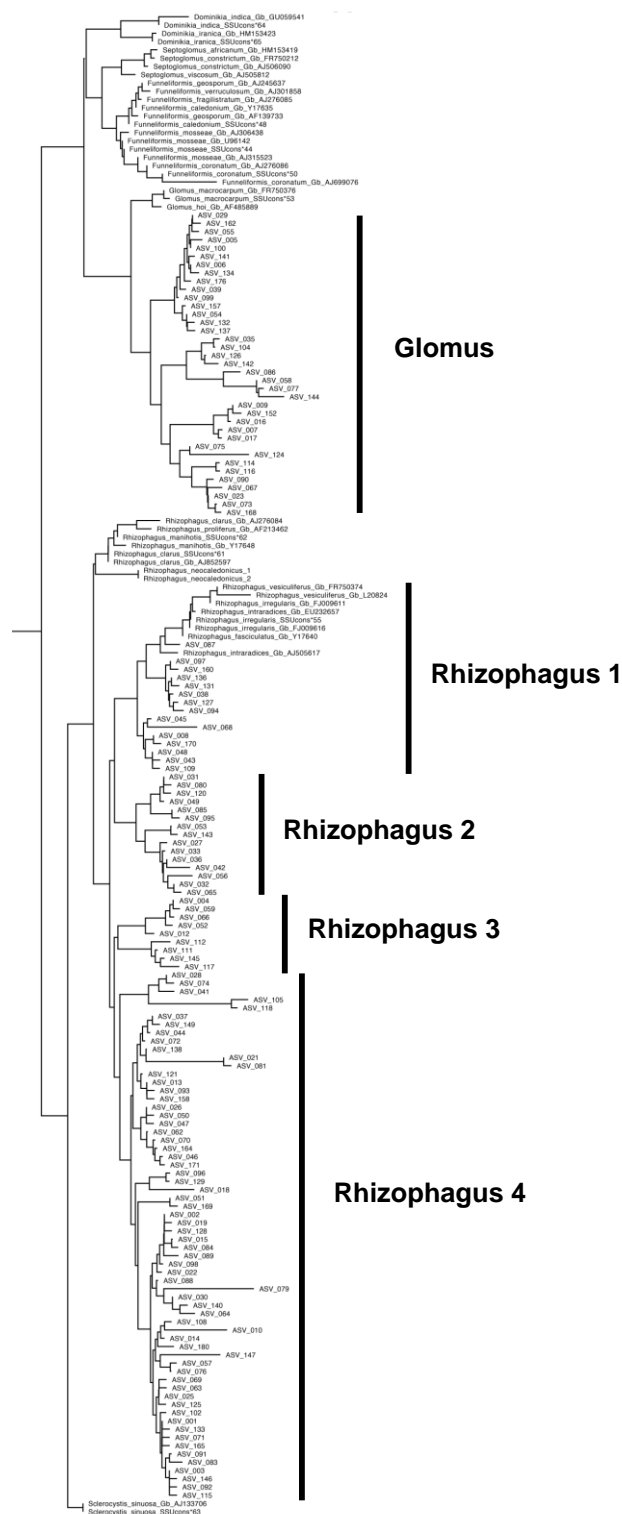


Figure 22 : Phylogénie des Glomeraceae. Arbre phylogénétique obtenu par la méthode du Neighbour-Joining à partir des séquences des ASVs et des séquences de références issues des bases de données. Les séquences des différents ASVs sont représentées sur cette figure. Les clades identifiés (Glomus, Rhizophagus 1 à 4) sont représentés sur la partie droite de la figure.

On peut y voir que l'ordre des glomérales est très largement représenté avec une nette prédominance de séquences caractéristiques du genre *Rhizophagus*. Ces résultats sont d'ailleurs assez comparables à ceux déjà observés sur terrain minier au cours d'études précédentes (Amir et al., 2014b). Par contre, de manière assez surprenante, aucune séquence issue d'*Acaulospora* n'a pu être identifiée dans les parcelles restaurées alors que ce genre avait été détecté, notamment dans la parcelle A1, dans des racines isolées lors d'une précédente collecte (résultats non montrés). Cela peut éventuellement s'expliquer par la méthode d'extraction de l'ADN à partir du sol total. En effet, les prélèvements de sols ne contenaient pas forcément beaucoup de racines mycorhizées, celles-ci n'étant pas spécialement recherchées et cela a pu avoir un impact négatif sur la représentation de certains taxons. Néanmoins, les quelques taxons présents dans les parcelles en milieu naturel montrent des séquences proches de celles d'*Acaulospora brasiliensis*, espèce que nous avons déjà repérée à plusieurs reprises dans les sols ultramafiques, même si ce groupe ne constitue jamais un groupe majoritaire.

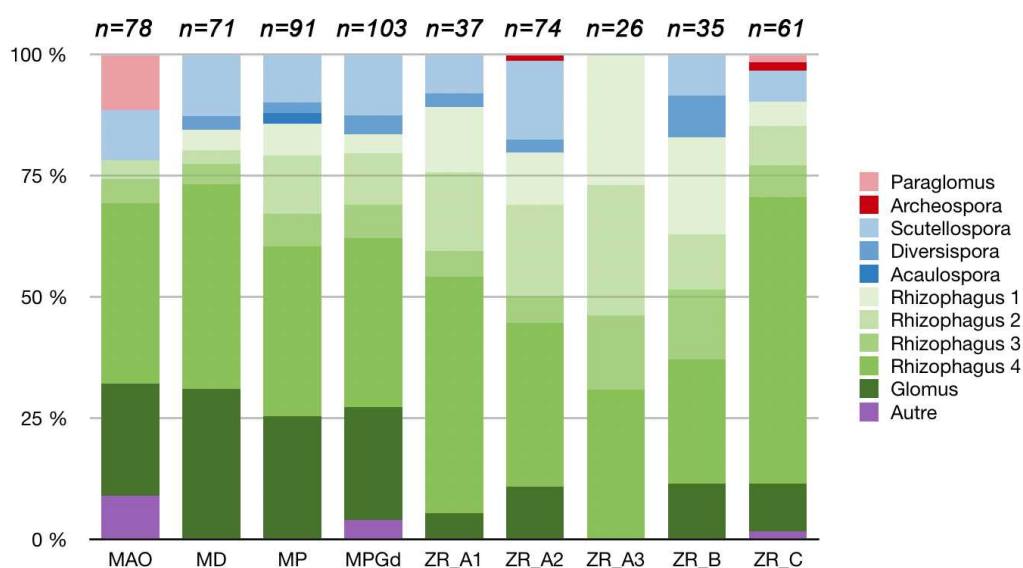


Figure 23 : Distribution des différents taxons de CMA dans les sols des parcelles analysées. Le nombre total de taxons détecté pour chaque parcelle est indiqué au-dessus de chaque colonne par la lettre n. Les glomérales sont indiqués en vert, les Diversisporales en bleu, et les groupes les plus basaux dans la phylogénie (Paraglomérales et Archéosporales) sont indiqués en rouge. Les ASVs « Autres » représentent des séquences qui finalement n'appartiennent pas à des séquences de Gloméromycètes.

Les séquences correspondant à des *Rhizophagus* étaient tellement abondantes que nous les avons subdivisées en 4 clades bien distincts sur l'arbre phylogénétique (Rhizophagus 1 à 4). Le clade Rhizophagus 1 comprend des espèces déjà référencées, comme *Rhizophagus intraradices* ou *Rhizophagus vesiculiferus*. Par contre, les 3 autres clades ne se rattachent à aucune séquence déjà identifiée dans les bases de données. Ceci indique que le potentiel de diversité encore non exploré dans les sols miniers de Nouvelle-Calédonie est certainement important. Ce qui est en accord avec d'autres travaux conduits dans le laboratoire qui ont abouti à la description de 4 nouvelles espèces de CMA (Crossay et al., 2018).

On observe une abondance de séquences correspondant à des taxons proches des *Glomus*, surtout dans les zones naturelles. Ces séquences sont nettement moins représentées dans les zones restaurées. Elles pourraient donc être un indicateur d'efficacité de la restauration écologique.

On retrouve également une quantité non négligeable de Gigasporaceae représentées par le genre *Scutellospora*. Ces CMA sont d'ailleurs plus abondants dans les formations fermées (MD, MP et MPGd), mais on les retrouve également en grande quantité dans les parcelles restaurées A2.

Également, de manière intéressante, on a pu noter une quantité importante de taxons correspondant aux groupes les plus basaux dans la phylogénie des Gloméromycètes (*Paraglomus* et *Archaeospora*) dans les maquis arbustifs ouverts (MAO) et dans les parcelles restaurées. Ces taxons moléculaires ont été peu retrouvés au cours des études antérieures conduites dans le laboratoire et il a été surprenant de les retrouver ici aussi représentés. Le fait de ne les retrouver que dans les formations ouvertes ou restaurées renforce l'impression que ces sols sont plus proches en termes de diversité en CMA, comme montré plus haut avec les diversités fongique et bactérienne totales.

Enfin, nous avons vérifié que les taxons identifiés formaient bien des groupes distincts en fonction des formations végétales. Il apparaît visiblement une différence entre les groupes correspondant aux zones restaurées qui se détachent des taxons présents sur les formations ouvertes (principalement le Maquis Arbustif Ouvert) et les formations fermées qui représentent des groupes plus stabilisés.

L'analyse des variances par les PERMANOVA indique que les communautés fongiques sont structurées dans les différents milieux et l'analyse des indices de dissimilarité de Jaccard et de Bray-Curtis montre des populations bien contrastées. Nous avons mis en évidence ces structurations des populations des CMA dans les différentes formations par une NMDS réalisée à partir des indices de Bray-Curtis (Figure 24). On y voit clairement que les taxons identifiés dans les parcelles restaurées forment un groupe bien distinct de ceux formés par les autres formations. À l'inverse, le recouvrement est assez important entre les parcelles issues des formations en Maquis Paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* et celles recouvertes par des Maquis Denses et dans une moindre mesure avec les formations de Maquis Préforestiers. Ces 3 types de formations présentent néanmoins des similarités importantes. Par contre, encore une fois, les parcelles de Maquis Ouvert présentent quant à elles des communautés fongiques bien distinctes (Figure 24).

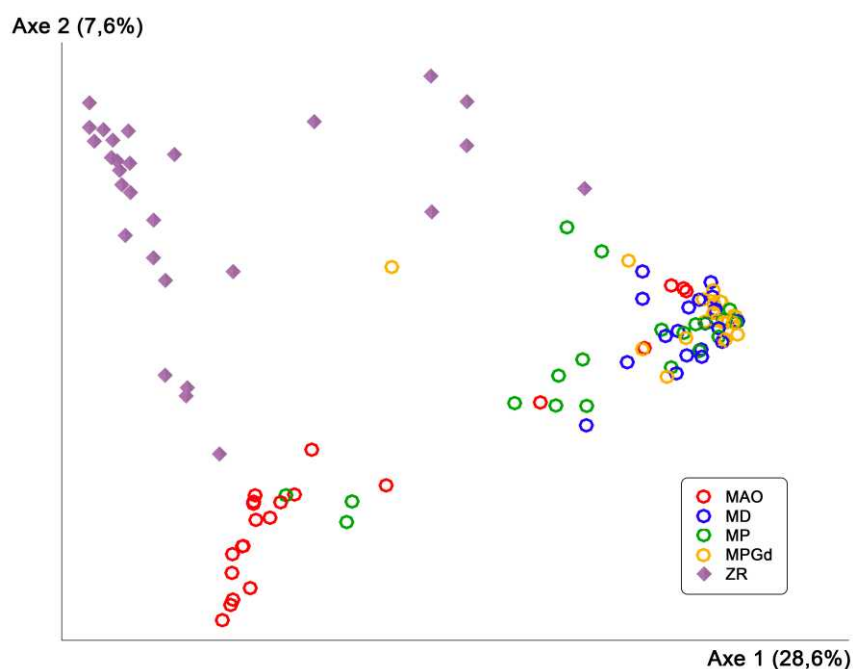


Figure 24 : Représentation NMDS se basant sur l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis entre les communautés de CMA des quatre écosystèmes de références (MAO, maquis arbustif ouvert ; MD, maquis dense ; MP : maquis paraforestier ; MPGd, maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum*) et des cinq sites restaurés (ZR) situés sur le plateau de Goro.

3.2.2.3. Conclusion

De cette étude, il ressort que les champignons mycorhiziens à arbuscules se structurent progressivement le long d'un gradient de densification des formations végétales. Ainsi, les milieux fermés, apparaissent comme des milieux stabilisés avec une richesse taxonomique élevée. Les populations endomycorhiziennes observables dans les milieux restaurés sont structurellement différentes de celles présentes dans les milieux fermés et denses. Nous avons également pu montrer que les CMA présents dans les formations ouvertes (MAO) présentent également des communautés fongiques qui leur sont propres.

Une chose marquante est l'hyper abondance des taxons du genre *Rhizophagus* détectés dans toutes les formations analysées (102 ASVs sur les 188 obtenus, soit plus de 54%). À ce stade il est bien évidemment impossible de relier le taxon à l'espèce, et nous nous garderons bien de faire ce raccourci beaucoup trop abrupt. Néanmoins l'existence de ces très nombreuses séquences montre l'importance de ces CMA dans les milieux ultramafiques. De tels résultats avaient déjà été avancés dans une étude précédente (Amir et al., 2014b). Nous avons été surpris, cependant de ne pas retrouver de séquences provenant des genres *Acaulospora* et surtout *Claroideoglomus*. En effet, ces genres sont généralement très présents dans les milieux miniers en Nouvelle-Calédonie (Y. Cavaloc, manuscrit en préparation). Il a déjà été montré que les *Acaulospora* et les *Glomus* sont particulièrement efficaces pour coloniser les racines des plantes, ce qui explique leur habituelle large distribution (Klironomos & Hart, 2002).

Cela est peut-être à rapprocher de la méthode d'analyse. En effet, si les analyses de diversités ciblant les CMA sont généralement réalisées à partir de racines ou de sol rhizosphérique, nous avons ici choisi de partir d'ADN extrait à partir de sol total. La raison majeure de ce choix était de pouvoir croiser toutes nos données avec celles obtenues sur la diversité des champignons totaux et des bactéries puisque les mêmes extractions d'ADN ont été utilisées. C'est aussi pour cela que le même pipeline informatique a été utilisé pour traiter les données de ces 3 groupes de microorganismes. De manière intéressante, des résultats comparables sont obtenus, montrant que l'ensemble de ces microorganismes suit la même évolution le long de la chronoséquence.

Ces résultats sont à mettre en corrélation avec des résultats analogues montrant qu'un couvert végétal plus dense est propice à un enrichissement du sol et que celui-ci a un impact sur la structuration des populations de CMA (Herrmann et al., 2016). En effet, dans ces conditions plus favorables, les plantes baissent leur contribution aux CMA induisant une plus grande compétition entre les symbiontes potentiels (Verbruggen & Kiers, 2010). Dans ces conditions, les CMA les plus compétitifs sont favorisés aux dépens des plus fragiles (Alguacil et al., 2012; Hassan et al., 2013). Par extension toute modification dans le temps des écosystèmes est donc susceptible de se répercuter sur la composition en CMA (Krüger et al., 2015) rendant ces microorganismes intéressants en tant que bioindicateurs.

Nous avons pu mettre en évidence que les *Glomus* sont également plus représentés dans les milieux les plus fermés et donc les plus stables.

3.2.3. *INFLUENCE DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS A ARBUSCULES ISSUS DES SOLS RESTAURÉS OU DE MILIEUX NATURELS SUR LA CROISSANCE ET L'ADAPTATION DE LA PLANTE*

Dans un premier temps, afin d'apprécier l'importance des mycorhizes à arbuscules dans les milieux étudiés, une analyse de l'abondance de cette symbiose a été réalisée sur quelques points en milieu restauré et en milieu naturel de référence.

Les effets de la symbiose mycorhizienne sur sol issu du milieu restauré ou du milieu naturel de référence, ont ensuite été mesurés grâce à deux expériences en serre. Ces expériences consistent à évaluer la croissance et la nutrition de deux espèces végétales sur les deux types de sols soumis à différents traitements permettant de distinguer les effets des CMA. Les espèces végétales utilisées sont : le sorgho (*Sorghum bicolor*) utilisé comme plante modèle à croissance rapide capable de croître sur sol ultramafique et *Metrosideros laurifolia*, une Myrtaceae endémique utilisée en restauration écologique.

3.2.3.1. **Matériels et Méthodes en quelques mots**

Cette partie ne donne pas tous les détails des protocoles et des techniques utilisées ; on peut si nécessaire se référer aux mémoires de master correspondant à ces travaux, listées à la fin du chapitre.

3.2.3.1.1. Estimation de l'importance des mycorhizes à arbuscules sur le terrain et de la diversité générale des CMA

L'importance des mycorhizes à arbuscules dans les deux milieux étudiés a été évaluée par deux techniques différentes qui permettent classiquement de mesurer le potentiel mycorhizogène du milieu : i) **L'abondance des spores de CMA dans les sols**. Les CMA étant des symbiotes obligatoires, les spores qu'ils produisent servent à la fois à leur conservation en absence de racine et à initier ensuite la symbiose à l'approche d'une racine. Leur abondance traduit donc globalement l'importance de cette symbiose dans le milieu. ii) **le degré de mycorhization**, c'est-à-dire de colonisation des racines par les CMA. Cette colonisation des racines par les symbiotes est généralement proportionnelle à leur influence positive sur la croissance. La diversité de ces CMA dans les racines est étudiée en complément et servira également pour l'interprétation des résultats.

- **Abondance des spores de CMA dans les parcelles étudiées** : Des échantillons de sols de chaque parcelle étudiée sont prélevés dans les 20 premiers centimètres. La quantité de spores de CMA (spores relativement de grande taille : 50-300 µm) est quantifiée par tamisage humide, puis centrifugation sur gradient de saccharose (50%), et enfin comptage des spores viables (ayant un contenu cellulaire) sous loupe binoculaire (GX45).

- **Mycorhization des racines dans les parcelles étudiées** : Des échantillons de racines fines sont prélevés sur le terrain pour chaque parcelle étudiée, sous les plantes, et ceci sans distinction de l'espèce végétale, en raison de l'entremêlement important des racines sur le terrain. Après lavage, les racines sont soumises à différents traitements afin de les ramollir, puis de les colorer (bleu Trypan). Elles sont ensuite placées entre lame et lamelle et observées au microscope pour mesurer la fréquence des points mycorhizés dans les racines (F%) et la densité de la mycorhization (M%) correspondant à la densité des CMA dans le cortex racinaire.

- **Diversité générale des CMA dans les parcelles étudiées** : Pour chaque échantillon de racines prélevé sur le terrain et dont le taux de mycorhization est évalué, l'ADN a été extrait et un fragment du gène de l'ADNr 18S a été amplifié par une double PCR. La première étape consiste en une amplification d'une région de 795 pb à l'aide des amorces AML1 et AML2. Cette paire d'oligonucléotides permet l'amplification de l'intégralité des séquences fongiques, mais présente l'inconvénient d'amplifier également le gène 18S de l'espèce végétale hôte. Pour éliminer les séquences végétales, une seconde amplification est réalisée à l'aide des amorces AM1 et NS31. Le fragment de 550 pb obtenu est alors cloné dans la bactérie *E. coli* à l'aide du plasmide pGEM-T (Promega) et les clones individuels sont séquencés en utilisant la méthode de Sanger en utilisant le kit de séquençage BigDye Terminator v3.1 (ABI). Les séquences ont toutes été réalisées sur la plateforme du vivant hébergée à l'IRD.

3.2.3.1.2. Expériences en serre pour évaluer l'efficacité des CMA des milieux restaurés et des milieux de référence étudiés

- Espèces végétales utilisées :

- Le sorgho (*Sorghum bicolor*) est utilisé comme plante modèle à croissance rapide. Cette espèce est en effet capable de croître sur sol ultramafique. Elle est par ailleurs très réceptive aux CMA en général.
- *Metrosideros laurifolia* est une Myrtaceae endémique utilisée en restauration écologique. Elle a une forte affinité avec les CMA et permet donc de mesurer correctement l'efficacité de ces symbiotes.

- Sols utilisés et traitements réalisés :

En raison de la lourdeur de ce type d'étude, les sols utilisés ont été prélevés sur une seule parcelle pour chacun des 2 milieux étudiés : A3 pour le site restauré et MPGd pour le site naturel de référence (maquis paraforestier à *Gymnostoma* se trouvant en face de la parcelle A3). Cependant chacun des deux sols utilisés correspond au mélange de plusieurs points de prélèvement au sein de chacune des 2 parcelles.

Le sol A3 est en fait composé initialement de latérite jaune ayant évolué après fertilisation et développement de la végétation depuis une trentaine d'années. Il reste toutefois un sol très pauvre en carbone et en azote total, avec la valeur de capacité d'échange cationique très faible (voir annexe 15, p. 254-256). Le sol MPGd est beaucoup plus riche en ces éléments et notamment très humifère.

Les sols sont tamisés (4 mm), puis les traitements suivants sont mis en place : sols non traités (SNT+ pour le sol naturel ; SRT+ pour le sol restauré), sol stérilisé (par autoclavage : SNT- pour le sol naturel ; SRT- pour le sol restauré), sol stérilisé inoculé avec des spores de CMA totaux du même sol (SN + spSN pour le sol naturel ; SR + spSR pour le sol restauré) et sol stérilisé inoculé avec des spores de CMA totaux de l'autre sol (SN + spSR pour le sol naturel ; SR + spSN pour le sol restauré (Tableau 7). Les spores sont isolées à partir des sols correspondants par tamisage humide et centrifugation différentielle, comme noté précédemment pour le comptage des spores de CMA.

Tableau 7 : Traitements mis en place pour l'expérience en serre sur l'influence de la des communautés de CMA sur le développement des plantes.

Traitement	Autoclavé	Type de sol		Inoculum	
		Sol Naturel (MPGd)	Sol Restauré (A3)	Spores du sol naturel	Spores du sol restauré
SNT ⁺		✓			
SRT ⁺			✓		
SNT ⁻	✓	✓			
SRT ⁻	✓		✓		
SR + spSR	✓		✓		✓
SR + spSN	✓		✓	✓	
SN + spSN	✓	✓		✓	
SN + spSR	✓	✓			✓

Neuf répétitions par traitement sont préparées (9 pots de 1L) et leurs racines sont inoculées avec une suspension dans l'eau contenant 500 spores.

La croissance des plants est mesurée régulièrement. À la fin de chaque expérience (5,5 mois pour le sorgho ; 12 mois pour *M. laurifolia*), la biomasse sèche est déterminée. Le taux de mycorhization des plants, ainsi que la densité des spores dans le sol (méthodes précédemment décrites) sont également mesurés. Les éléments minéraux essentiels ainsi que les métaux lourds sont dosés par ICP-OES (LAMA, IRD).

Une mesure de l'activité microbienne des sols dans les pots par estimation de l'activité des phosphatases alcaline a été effectuée également en fin d'expérience. Cette méthode est basée sur l'hydrolyse d'un substrat de paranitrophényl phosphate (pNPP) disodique par les phosphatases, enzymes secrétées par les microorganismes du sol, hydrolyse colorant le

milieu selon la loi de Beer-Lambert, où la densité optique est alors proportionnelle à la concentration enzymatique des échantillons de sol.

3.2.3.2. Caractérisation de la mycorhization sur terrain

3.2.3.2.1. Densité en spores de CMA

La densité en spores de CMA est significativement plus élevée dans le milieu naturel de référence que dans le milieu restauré (Figure 25). Elle est plus faible à la lisière du milieu naturel. La parcelle A3 est plus riche en spores que les 2 autres parcelles testées (A1 et A2).

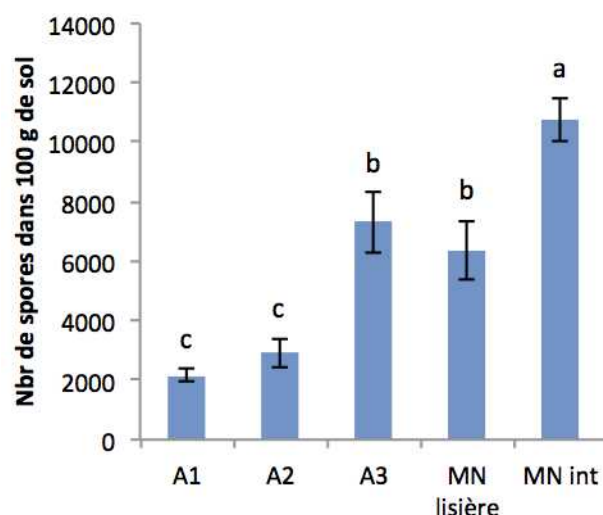


Figure 25 : Dénombrement des spores de CMA dans les sols étudiés prélevés sur terrain (sols peu riches en racines). Les différentes parcelles sont indiquées sur l'axe des abscisses. A1, A2, A3 : sols issus de la parcelle restaurées ; MN lisière : sol issu du maquis naturel en lisière de la zone dégradée ;

MN int : sol issu du cœur du maquis de référence proche des parcelles. Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standard. Une PERMANOVA à un facteur a été réalisée. Les lettres a, b et c correspondent au test post-hoc Isd de Fisher. Les barres surmontées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 0,05.

Ces analyses sont réalisées sur des sols peu denses en racines. Pour compléter ces résultats nous avons rajouté une analyse sur des sols plus riches en racines (sols rhizosphériques) contenant en principe plus de spores, celle-ci étant produites autour des racines. La plus grande richesse du milieu naturel se confirme très clairement (Figure 26).

Les densités en spores de CMA dans sols restaurés restent toutefois assez élevées et proches des valeurs qu'on trouve habituellement dans les sols miniers non perturbés (Amir et al., 2014; Perrier et al., 2006), ce qui indique une activité symbiotique notable dans ces substrats latéritiques.

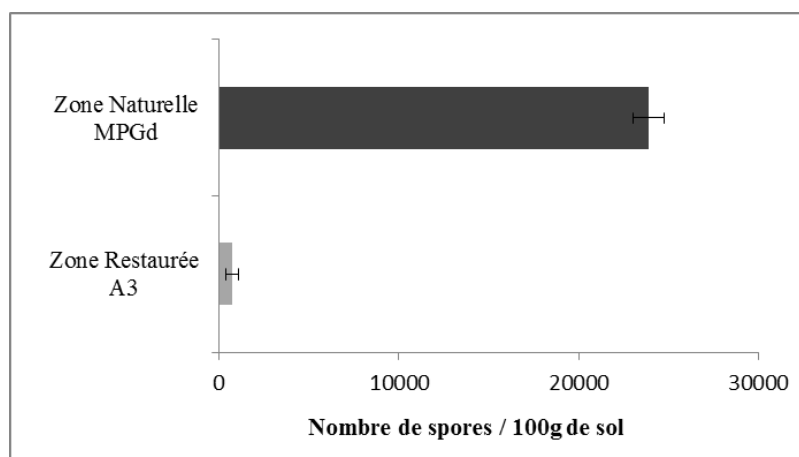


Figure 26 : Nombre de spores de CMA pour 100g de sol ultramafique restauré ou naturel prélevés sur terrain (sols rhizosphériques).

3.2.3.2.2. Taux d'endomycorhization

Les fréquences de mycorhization F% (% de fragments racinaires contenant des CMA) des échantillons prélevés sur le terrain varient entre 65% et 97%, tandis que les intensités de mycorhization M% (% de cortex racinaire occupé par les CMA) varient entre 14% et 43% (Figure 27). La deuxième variable (M%), plus précise, traduit mieux l'activité symbiotique ; or là encore on note que les racines prélevées dans le milieu naturel de référence sont plus mycorhizées que celles issues du milieu restauré.

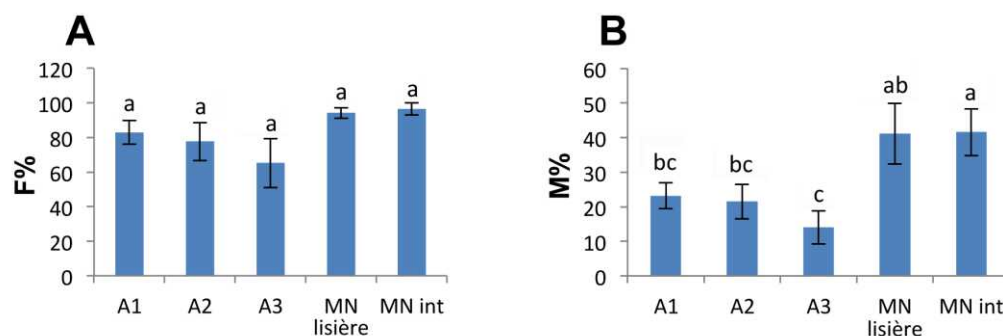


Figure 27 : Evaluation de la mycorhization dans les racines prélevées sur le terrain. (A) fréquence de mycorhization moyenne (F %), (B) intensité de mycorhization moyenne (M %). Les différentes parcelles sont indiquées sur l'axe des abscisses. A1, A2, A3 : sols issus de la parcelles restaurées ; MN lisière : sol issu du maquis naturel en lisière de la zone dégradée ; MN int : sol issu du cœur du maquis de référence proche des parcelles. Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standard. Une PERMANOVA à un facteur a été réalisée. Les lettres a, b et c correspondent au test post-hoc Isd de Fisher. Les barres surmontées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 0,05.

Les valeurs obtenues sont conformes à celles habituellement observées pour les milieux ultramafiques néocalédoniens (Perrier et al., 2006), celles des parcelles restaurées traduisant

donc un état relativement proche du milieu naturel. L'activité mycorhizienne est importante car on voit assez nettement les arbuscules dans le cortex racinaire (Figure 28).

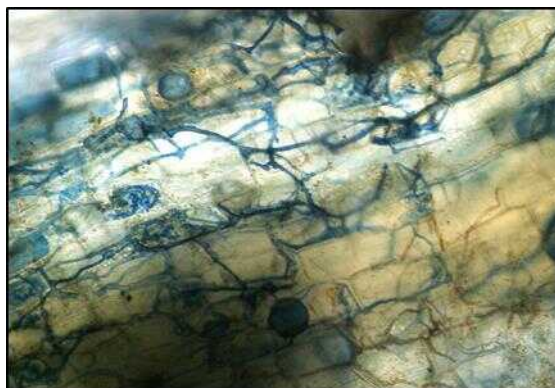


Figure 28 : Aspect du cortex racinaire mycorhizé dans un échantillon de sol naturel de référence. Les arbuscules sont visibles notamment à gauche de l'image.

3.2.3.2.3. Diversité générale des CMA dans les racines

En ce qui concerne la diversité des CMA qui colonisent les racines dans les parcelles étudiées, on note une différence qualitative entre les communautés de CMA des sols restaurés et celles des sols de référence (Figure 29). La parcelle A3 est la seule à révéler au plus 2 genres ici comptabilisés ensembles du fait de leur proximité phylogénétique. Le genre *Rhizophagus* (anciennement inclus dans le genre *Glomus*) est généralement le plus abondant confirmant d'autres travaux sur les sols ultramafiques néocalédoniens (Amir et al., 2014b; Gensous, 2014). Toutefois la parcelle A1 est dominée par le genre *Acaulospora*, habituellement peu représenté dans les milieux naturels ultramafiques.

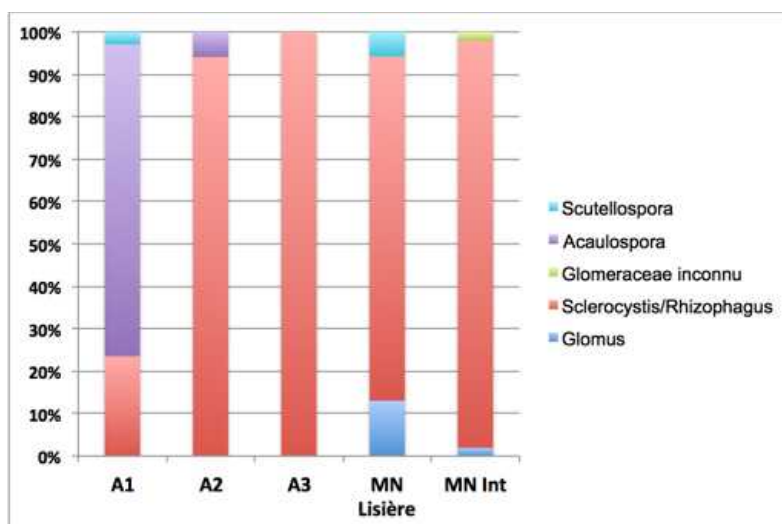


Figure 29 : Diversité taxonomique des CMA dans les racines prélevées sur le terrain. Pour chaque sol de provenance (A1, A2, A3, MN Lisière ou MN Int) les quantités relatives de chaque genre de CMA rencontré sont représentées. Le code couleur représente les différents genres identifiés. A1, A2, A3 : sols issus de la parcelles restaurées ; MN lisière : sol issu du maquis naturel en lisière de la zone dégradée ; MN int : sol issu du cœur du maquis de référence proche des parcelles.

En termes quantitatifs, il ne se dégage pas de différence entre les diversités des communautés de CMA dans les racines des parcelles étudiées. En effet, les résultats ne sont pas assez concluants, le nombre d'OTU par parcelle étant relativement faible : uniquement 3 pour le milieu naturel de référence, 10 en lisière de ce même milieu et 5 à 6 pour les 3 parcelles restaurées. Ces résultats sur racines, nécessitent un approfondissement, avec notamment plus de séquences analysées. Ils vont cependant dans le même sens que ceux obtenus pour les sols eux-mêmes par séquençage à haut débit (partie 4.2 de ce rapport), même si les différences quantitatives sont très peu marquées, alors qu'elles apparaissent, malgré une forte variabilité pour les sols eux-mêmes.

3.2.3.3. Expérience en serre avec *Sorghum bicolor*

Les analyses de la symbiose mycorhizienne sur le terrain indiquant une plus grande abondance des CMA dans le milieu naturel de référence comparé aux parcelles restaurées testées, on peut se demander si cette différence se traduit par une plus grande efficacité de la symbiose endomycorhizienne en milieu naturel.

3.2.3.3.1. Effets des CMA sur la biomasse végétale

Une première expérience en serre réalisée avec le sorgho, plante modèle à croissance rapide (Figure 30), montre que :

- La biomasse des plantes, notamment de leur partie aérienne, est plus importante sur sol naturel de référence. Ce résultat est bien sûr prévisible, le sol de maquis paraforestier étant plus fertile que le substrat latéritique des parcelles restaurées, comme le montre bien les caractéristiques physico-chimiques des sols (richesse en C, N et K notamment beaucoup plus élevées, Annexe 15).
- Les communautés de CMA issues d'un milieu naturel de référence sont significativement plus efficaces en termes d'effet sur la croissance de la plante sur sol naturel que celles issues d'une parcelle restaurée.
- Les communautés de CMA issues du sol de référence sont plus efficaces sur leur sol d'origine (SN) que sur sol restauré, indiquant probablement une certaine inadaptation des CMA du milieu naturel au substrat du milieu restauré.
- A l'inverse, les CMA issus du sol restauré n'ont pas d'influence significative sur les plantes, quel que soit le sol de culture.

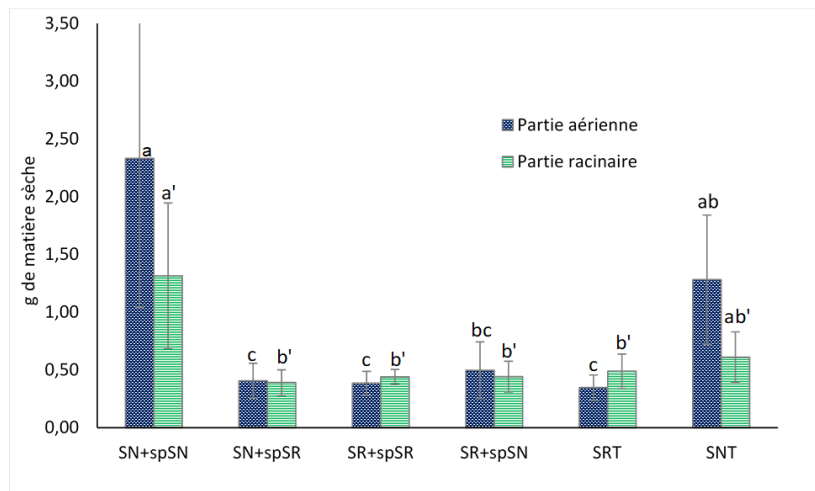


Figure 30 : Biomasses sèches des plantes (*Sorghum bicolor*), après 170 jours de croissance en serre. Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standard. SRT : sol restauré témoin autoclavé ; SNT : sol naturel témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Une PERMANOVA à un facteur a été réalisée. Les lettres a, b et c correspondent au test post-hoc Isd de Fisher. Les barres surmontées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 0,05.

La Figure 31 qui donne les réponses à la mycorhization de la croissance végétale (pourcentage de variation de la biomasse par rapport au sol témoin stérilisé), permet de mieux percevoir ces effets. Toutefois, comme on le voit dans la figure précédente, les effets des CMA sur la biomasse des plantes, en comparaison avec les témoins autoclavés correspondants, ne sont globalement pas significatifs en raison de la forte variabilité des valeurs (écarts-types élevés).

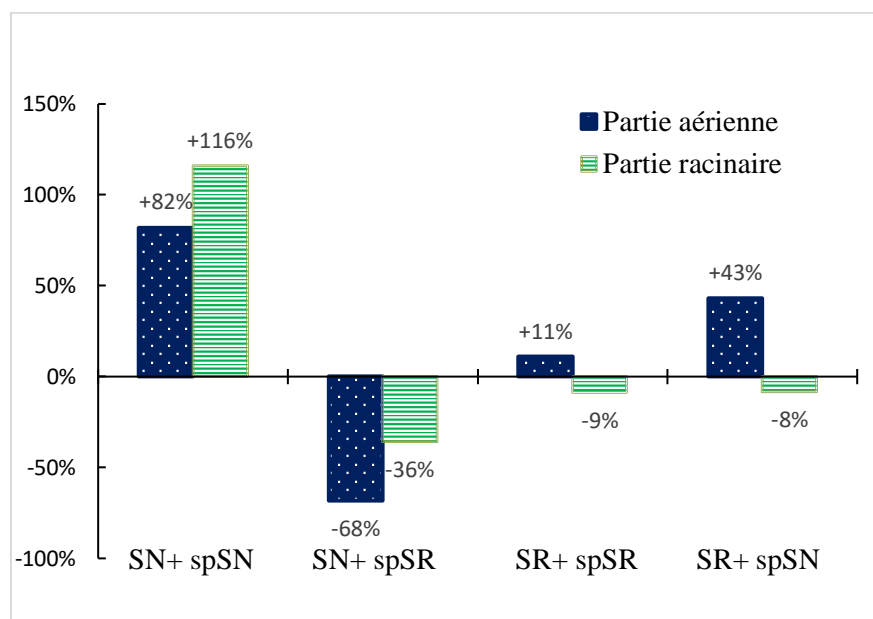


Figure 31 : Réponse de la croissance à la mycorrhization (MGR) pour les biomasses sèches des plantes (*Sorghum bicolor*). SRT : sol restauré témoin autoclavé ; SNT : sol naturel témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré.

La Figure 32 montre l'aspect de plants dans un traitement favorable et un traitement peu favorable.



Figure 32 : Aspect d'un plant pris dans le traitement le plus favorable (SN+spSN), à droite, et d'un plant pris dans un traitement non mycorhizé, peu favorable (SNT-) à gauche.

3.2.3.3.2. Effets des CMA sur la mycorrhization des plantes

Les taux de mycorrhization (Figure 33) ne semblent pas relier directement aux effets observés sur la croissance végétale puisque le traitement le plus efficace (CMA du sol naturel de référence inoculés au même sol) donnent des valeurs de mycorrhization relativement basses, alors que l'intensité de mycorrhization la plus élevée est notée pour les pots comportant du sol restauré inoculé avec des spores issues du sol naturel de référence, qui lui donne au contraire

une réponse négative en termes de biomasse. Une telle absence de lien entre mycorhization et effet des CMA sur la croissance végétale n'est pas rare et s'explique par la qualité des communautés de CMA et leur aptitude symbiotique celle-ci pouvant varier d'un effet positif très fort à un effet négatif pour certaines souches (Smith & Smith, 2013).

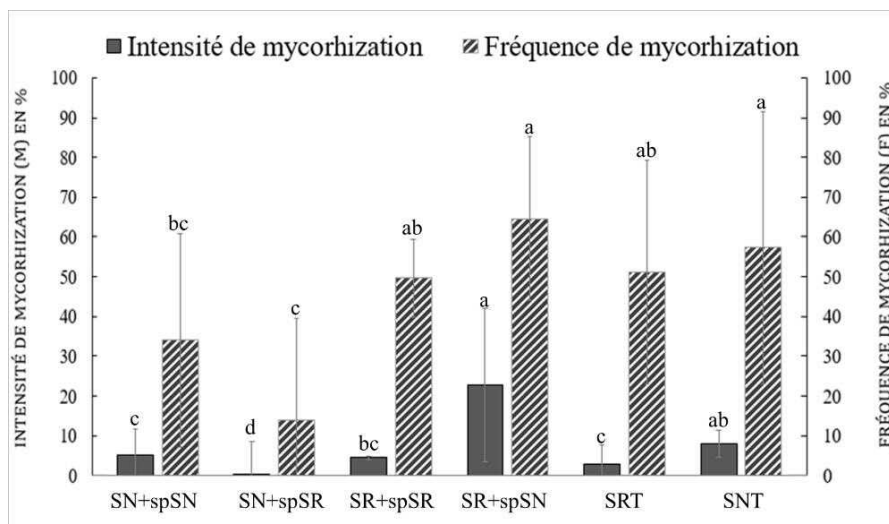


Figure 33 : Intensité de mycorhization (%M) et fréquence de mycorhization (%F) pour *Sorghum bicolor*. SRT : sol restauré témoin autoclavé ; SNT : sol naturel témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Une PERMANOVA à un facteur a été réalisée. Les lettres a, b et c correspondent au test post-hoc Isd de Fisher. Les barres surmontées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 0,05.

3.2.3.3.3. Effets des CMA sur la nutrition minérale des plantes

Les teneurs en phosphore total des parties aériennes et racinaires des plantes (Tableau 8) ne varient pas fortement bien qu'elles soient les plus élevées pour les parties aériennes dans le sol naturel de référence inoculés avec ses propres spores de CMA (SNspSN).

En ce qui concerne potassium, les valeurs des parties aériennes sont significativement plus élevées pour SNspSN que le témoin correspondant (SNT) et que le même sol inoculé en spores de sol restauré (SNspSR). Le sol restauré donne des valeurs plus basses en général pour la partie aérienne.

Les teneurs en calcium ne suivent pas la même logique : elles sont plus élevées dans les parties racinaires, particulièrement pour le sol restauré, quel que soit le traitement subi. Le traitement SNspSN donne ici les valeurs les plus basses.

Cependant, ces valeurs ne traduisent pas les quantités totales de ces éléments absorbées par la plante, notamment dans la partie aérienne. Or ce sont ces quantités absorbées qui traduisent le mieux la contribution de la symbiose à la nutrition (Smith & Smith, 2011). En effet, les teneurs en éléments par gramme de matière végétale sont fortement diluées dans cette masse volumineuse lorsque la masse de la plante est plus importante du fait d'une plus grande

croissance liée à la symbiose. C'est pourquoi les valeurs exprimées en quantités absorbées par la partie aérienne pour chaque plante donnent des différences beaucoup plus nettes. Il apparaît alors une amélioration de la nutrition minérale, liée à la symbiose, très nette pour le sol naturel de référence inoculé avec ses propres spores de CMA et ceci pour les 3 éléments essentiels considérés, les valeurs pour le sol restauré, quel que soit le traitement, restant alors clairement plus faibles. Il en est de même pour le sol naturel inoculé avec des spores de sol restauré (SNspSR).

Tableau 8 : Teneurs en éléments essentiels dans les parties aériennes et racinaires, suivies des quantités de ces éléments transférées vers les parties aériennes pour chaque plante. SRT : sol restauré témoin autoclavé ; SNT : sol naturel témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Une PERMANOVA à un facteur a été réalisée. Les lettres a, b et c correspondent au test post-hoc Isd de Fisher. Les barres surmontées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 0,05.

		P en µg/g	P par plant (g)	K en mg/g	K par plant (g)	Ca en mg/g	Ca par plant (g)
SNspSN	Partie aérienne	241,9 ± 96,5 a	561,2 a	4,6 ± 0,6 a	10,7 a	1,9 ± 0,2 d	4,4 a
	Partie racinaire	198,5 ± 46,3 a'		2,3 ± 0,55 a'		2,3 ± 0,56 b'	
SNspSR	Partie aérienne	173 ± 63,7 ab	67,5 c	1,8 ± 0,84 c	0,7 d	2,6 ± 0,89 cd	1,0 c
	Partie racinaire	177,7 ± 31,3 a'		1,3 ± 0,44 b'		4,1 ± 0,73 a'	
SRspSN	Partie aérienne	161 ± 44 b	80,5 c	2,9 ± 0,89 b	1,45 c	2,8 ± 0,81 bc	1,4 c
	Partie racinaire	180,9 ± 11,2 a'		2,6 ± 0,4 a'		4,1 ± 0,2 a'	
SRspSR	Partie aérienne	206,1 ± 37,8 ab	76,3 c	3,2 ± 0,6 b	1,2 cd	3,4 ± 0,5 ab	1,3 c
	Partie racinaire	180 ± 29,9 a'		2 ± 0,6 a'		4,2 ± 0,3 a'	
SRT	Partie aérienne	196,4 ± 31,8 ab	62,8 c	3,2 ± 0,4 b	1,0 cd	3,6 ± 0,5 a	1,2 c
	Partie racinaire	170,8 ± 8,4 a'		2,4 ± 0,5 a'		4,1 ± 0,4 a'	
SNT	Partie aérienne	183,1 ± 41,2 ab	236,2 b	3,7 ± 0,6 b	4,7 b	2,1 ± 0,4 cd	2,7 b
	Partie racinaire	187,9 ± 10,1 a'		2,2 ± 0,2 a'		2,7 ± 0,6 b'	

3.2.3.3.4. Effets des CMA sur les teneurs en métaux lourds dans les plantes

Les métaux lourds (Cr, Ni et Mn) sont bien sûr des éléments pouvant être toxiques à des teneurs relativement faibles. On constate ici que les plantes poussant sur sol naturel de référence montrent les teneurs en métaux des parties aériennes les plus faibles (Tableau 9). Il n'y a pas de différence significative pour ce sol entre les pots témoins et les pots inoculés. Les plants se développant sur sol restauré contiennent globalement plus de métaux dans leurs parties aériennes, ce taux étant toutefois réduit par l'inoculation avec des spores de CMA provenant du sol naturel de référence.

Les teneurs en métaux lourds sont plus élevées dans les parties racinaires que dans les parties aériennes, ce qui est habituel sur sol miniers (Jaffré & L'Huillier, 2010) puisque la plante tend à protéger les parties aériennes photosynthétiques de la toxicité.

Tableau 9 : Concentrations en métaux dans les parties aériennes (A et B) et racinaires (C et D). SRT : sol restauré témoin autoclavé ; SNT : sol naturel témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Une PERMANOVA à un facteur a été réalisée. Les lettres a, b et c correspondent au test post-hoc Isd de Fisher. Les barres surmontées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de 0,05.

		Cr en µg/g	Ni en µg/g	Mn en µg/g
SNspSN	Partie aérienne	23,1 ± 52,3 c	14,5 ± 7,1 b	80 ± 19,7 c
	Partie racinaire	1676,5 ± 925,4 a	201,6 ± 112,4 c	184,3 ± 91,1 c
SNspSR	Partie aérienne	65,3 ± 39,5 bc	38,7 ± 18,7 b	92,1 ± 34,8 c
	Partie racinaire	1085,9 ± 645,1 ab	169,7 ± 42,3 c	302,2 ± 59,7c
SRspSN	Partie aérienne	106,6 ± 83,8 ab	109 ± 65,1 a	195,2 ± 70,3 b
	Partie racinaire	957,6 ± 318,9 ab	658,7 ± 212,7 b	869,9 ± 214,7 b
SRspSR	Partie aérienne	99 ± 53,9 ab	113,1 ± 48,5 a	245,5 ± 52,4 ab
	Partie racinaire	1253,6 ± 535,9 ab	810,5 ± 260,1 b	761 ± 201,1 b
SRT	Partie aérienne	150,6 ± 73,1 a	152,7 ± 49,2 a	259,5 ± 60,5 a
	Partie racinaire	1524,2 ± 475,9 ab	1085,7 ± 315,9 a	1083,8 ± 131,2 a
SNT	Partie aérienne	6,2 ± 22,3 c	14,7 ± 5,6 b	76 ± 14,7 c
	Partie racinaire	831,5 ± 371,6 b	122,4 ± 29,5 c	149,2 ± 41,05 c

Sur sol naturel de référence, l'inoculation avec des spores de CMA issues du même sol permet une plus faible translocation de Cr et Ni vers les parties aériennes. En effet, le facteur de translocation FT (teneurs de la partie aérienne/teneur de la partie racinaire) est plus faible pour SNspSN (0,013 pour Cr et 0,072 pour Ni) que pour SNspSR (0,060 pour Cr et 0,228 pour Ni). Il semble donc là encore que les communautés de CMA issues du milieu naturel soient plus efficaces que celles issues du milieu restauré.

3.2.3.4. Expérience en serre avec *Metrosideros laurifolia*

Cette deuxième expérience avec une myrtacée endémique fréquente en maquis minier et utilisée en restauration écologique (*Metrosideros laurifolia*) vise à vérifier si les résultats obtenus avec une plante exogène se confirment avec cette espèce.

3.2.3.4.1. Effets des CMA sur la biomasse végétale

Globalement, les résultats de croissance des plants de *M. laurifolia*, exprimés ici par la biomasse en fin d'expérience, confirment ceux obtenus pour le sorgho (Figure 34). En effet, les CMA issus du sol naturel de référence, et ré-inoculés dans le même sol, donnent les meilleures croissances, dépassant même le sol naturel non autoclavé qui contient les mêmes CMA, mais en densité plus faible au départ puisque les spores ont été concentrées pour être

inoculées. L'augmentation de biomasse, par rapport au témoin correspondant autoclavé (MGR) est de 915% (Figure 35).

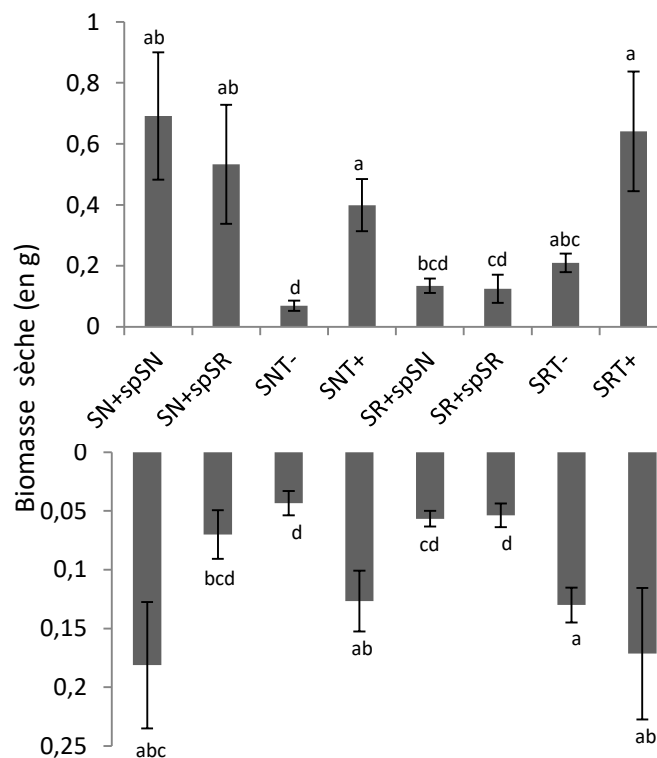


Figure 34 : Moyenne des biomasses sèches pour les parties aériennes (histogramme du haut) et racinaires (histogramme du bas) de l'espèce *Metrosideros laurifolia*, après 360 jours de croissance en serre. SNT+ : sol naturel Témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Une ANOVA à un facteur est réalisée indépendamment pour les parties aériennes et racinaires. Les lettres correspondent au test post-hoc de Kruskal-Wallis. Les modalités avec des lettres différentes présentent une différence significative au seuil de 0,05.

A l'inverse les CMA issus du sol restauré ne montrent aucun effet sur sol restauré et ont même un effet négatif significatif sur la biomasse racinaire, tendance déjà notée sur sorgho. Le sol restauré non autoclavé donne ici une biomasse similaire à celle du sol de référence contrairement à ce qui a été noté pour le sorgho. Ce résultat s'explique logiquement par la meilleure adaptation de cette espèce végétale au substrat ultramafique, même s'il ne s'agit pas d'un vrai sol de surface.

Les CMA issus du sol restauré, ont un effet important sur sol de référence, indiquant peut-être une meilleure adaptation des communautés de CMA de ce substrat au sol de référence plus riche. Il est en effet connu que des sols fortement carencés, notamment en P, peuvent réduire les effets de la symbiose endomycorhizienne (Lagrange et al., 2013; Lambers et al., 2009).

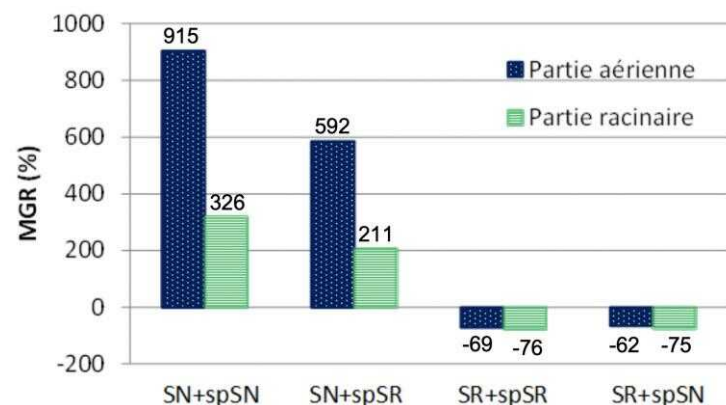


Figure 35 : Réponse de la croissance à la mycorhization (MGR) pour les parties aériennes et racinaires des plants *Metrosideros laurifolia*, soumis à différents traitements. SNT+ : sol naturel Témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré.

3.2.3.4.2. Effets des CMA sur la mycorhization des plantes

Comme pour le sorgho, on ne constate pas de lien clair entre les taux de mycorhization (Figure 36) et les effets observés sur la croissance végétale puisque le traitement le plus efficient (CMA du sol naturel de référence inoculées au même sol) donne des valeurs assez basses de fréquence et d'intensité de mycorhization. Ce sont les sols non traités (SNT+ et SRT+) qui donnent ici les plus fortes valeurs.

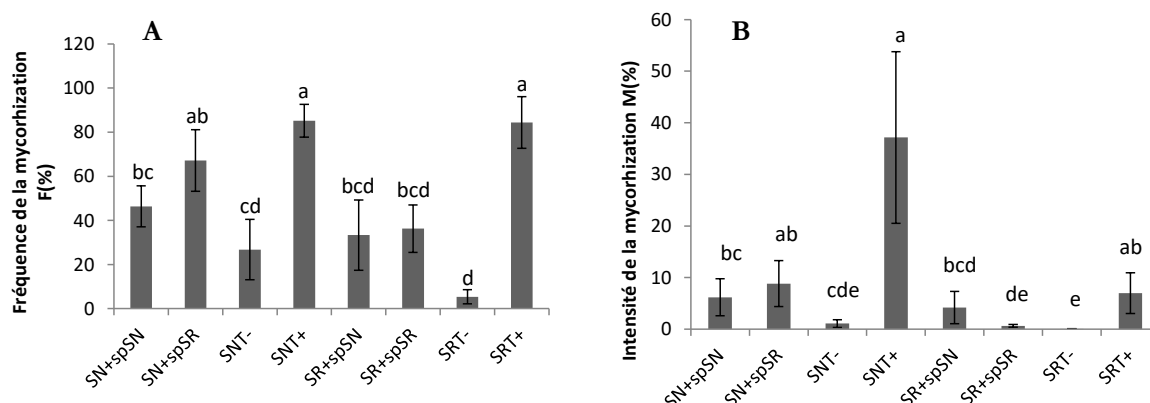


Figure 36 : Moyenne des fréquences de mycorhization (A) et des intensités de la mycorhization (B) chez *Metrosideros laurifolia* soumis à différents traitements. SNT+ : sol naturel Témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Une ANOVA à un facteur est réalisée indépendamment pour les parties aériennes et racinaires. Les lettres correspondent au test post-hoc de Kruskal-Wallis. Les modalités avec des lettres différentes présentent une différence significative au seuil de 0,05.

Les densités en spores de CMA, en fin d'expérience, varient fortement d'un traitement à un autre (Figure 37). Elles sont plus élevées pour le sol naturel de référence inoculé avec des CMA de sol naturel ou restauré. La sporulation est plus faible dans les sols restaurés, quel que soit le traitement. Les sols témoins autoclavés ne présentent pas de spores CMA. Il semble donc là encore que le sol naturel de référence soit plus favorable à la sporulation des CMA que le sol restauré.

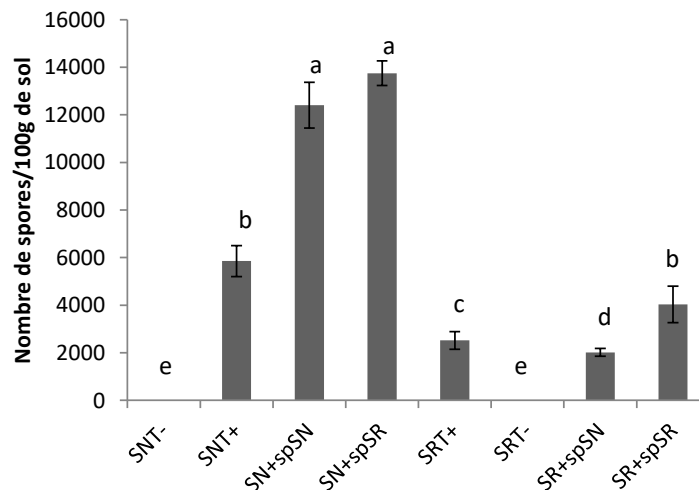


Figure 37 : Nombre de spores de CMA présentes, en fin d'expérience, dans 100g de sol dans les pots soumis à différents traitements. SNT+ : sol naturel Témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Une ANOVA à un facteur est réalisée indépendamment pour les parties aériennes et racinaires. Les lettres correspondent au test post-hoc de Kruskal-Wallis. Les modalités avec des lettres différentes présentent une différence significative au seuil de 0,05.

3.2.3.4.3. Effets des CMA sur la nutrition minérale des plantes

Les analyses minérales sur les éléments essentiels ne sont malheureusement pas complètes pour cette expérience : il manque le phosphore, élément important pour les effets des mycorhizes. Toutefois, comme on l'a vu précédemment, et comme c'est fréquemment le cas en milieu ultramafique néocalédonien, le comportement de P suit de près celui de K (Amir et al., 2019; Crossay et al., 2019) et une extrapolation pourra être faite, notamment si elle confirme les tendances observées avec le sorgho.

Les teneurs en K et Ca dans les organes sont difficiles à interpréter (Figure 38). Cette difficulté est en fait liée essentiellement à l'effet de dilution des minéraux induit par l'augmentation de croissance en relation avec la symbiose mycorhizienne. Cette dilution dans un volume plus élevé de biomasse réduit les valeurs des teneurs en éléments en mg/g, ce qui a pour effet de tendre vers l'égalisation des teneurs sauf pour les valeurs les plus faibles (ici SNT+, SNT- et SRT+).

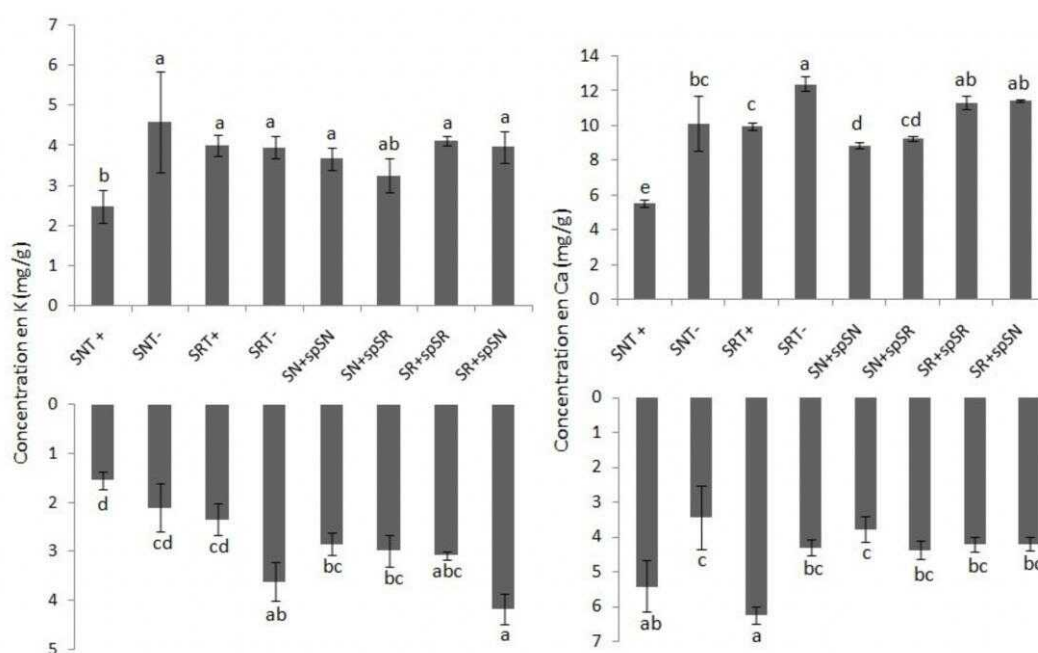


Figure 38 : Teneurs en potassium et calcium des parties aérienne (en haut) et racinaire (en bas) de *Metrosideros laurifolia*. SNT+ : sol naturel Témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Une ANOVA à un facteur est réalisée indépendamment pour les parties aériennes et racinaires. Les lettres correspondent au test post-hoc de Kruskal-Wallis. Les modalités avec des lettres différentes présentent une différence significative au seuil de 0,05.

C'est pourquoi, comme noté précédemment, le calcul des quantités absorbées par plante, notamment pour les parties aériennes, sont plus importantes pour l'interprétation, car elles traduisent mieux la contribution de la symbiose à la nutrition (Smith & Smith, 2011). En effet, ces valeurs (Tableau 10) montrent des effets significatifs de la symbiose, aussi bien pour K que pour Ca, en particulier dans les pots du sol de référence inoculé en CMA du même sol, qui donnent les valeurs les plus élevées, indiquant une différence très nette avec le témoin autoclavé correspondant (SNT-). Les CMA de sols restaurés, par contre, n'ont pas d'effet significatif sur sol restauré ; leur effet sur sol naturel est positif pour K, mais moindre que celui des CMA de sol naturel.

Comme souligné précédemment pour le sorgho, les différences obtenues entre les effets des communautés de CMA issues du sol naturel de référence et celles issues du sol restauré indiquent une plus faible efficacité des CMA de sol restauré d'une part, mais aussi une faible efficacité de la symbiose sur sol restauré d'autre part, en raison des carences en éléments (Lagrange et al., 2013; Lambers et al., 2009). En effet, comme on l'a constaté pour le sorgho, les CMA de sol naturel sont également moins efficaces sur sol restauré. Les différences réelles d'efficacité entre les CMA de sol naturel de référence et celles de sol restauré sont donc réelles, mais moins importantes qu'il n'y paraît au premier abord.

Tableau 10 : Teneurs en K et Ca dans les parties aériennes et quantités de K et Ca par plante, transférées vers les parties aériennes chez *Metrosideros laurifolia* soumis à différents traitements. SNT+ : sol naturel Témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Les barres d'erreurs correspondent aux écarts-types. Une ANOVA à un facteur est réalisée indépendamment pour les parties aériennes et racinaires. Les lettres correspondent au test post-hoc de Kruskal-Wallis. Les modalités avec des lettres différentes présentent une différence significative au seuil de 0,05.

Eléments	Modalités	Teneurs (mg/g) (partie aérienne)	Quantités absorbées (mg/plant) (partie aérienne)
K	SNT+	2,49 b	0,99 c
	SNT-	4,60 a	0,32 d
	SRT+	4,00 a	2,57 a
	SRT-	3,96 a	0,83 c
	SN+spSN	3,68 a	2,54 a
	SN+spSR	3,25 ab	1,73 b
	SR+spSR	4,12 a	0,51 cd
	SR+spSN	3,97 a	0,53 cd
Ca	SNT+	5,54 e	2,21 bc
	SNT-	10,15 bc	0,70 d
	SRT+	9,98 c	6,40 a
	SRT-	12,42 a	2,61 b
	SN+spSN	8,88 d	6,13 a
	SN+spSR	9,27 cd	4,94 a
	SR+spSR	11,35 ab	1,42 c
	SR+spSN	11,47 ab	1,54 c

3.2.3.4.4. Effets des CMA sur les teneurs en métaux lourds dans les plantes

L'analyse des teneurs en métaux dans les organes de *Metrosideros laurifolia* montre que les plantes inoculées avec des CMA sont caractérisées par des teneurs de Fe, Cr et Ni plus faibles dans les parties aériennes en comparaison avec les témoins autoclavés correspondants (Figure 39). Les plants sur sol naturel autoclavé ou non (SNT- et SNT+) sont toujours significativement plus riches en Fe et moins riche en Mn que les plants sur sol restauré. Les teneurs en Fe, Cr et Ni des parties aériennes des plants sur sol naturel, inoculés en spores de CMA sont significativement plus basses que celles des plants témoins correspondants (SNT-) ; mais il n'y a pas de différence entre les plants inoculés avec des CMA issus de sol naturel et ceux issus de sol restauré. Il n'y a pas non plus de différence pour les parties aériennes entre les plants inoculés en CMA des 2 origines différentes.

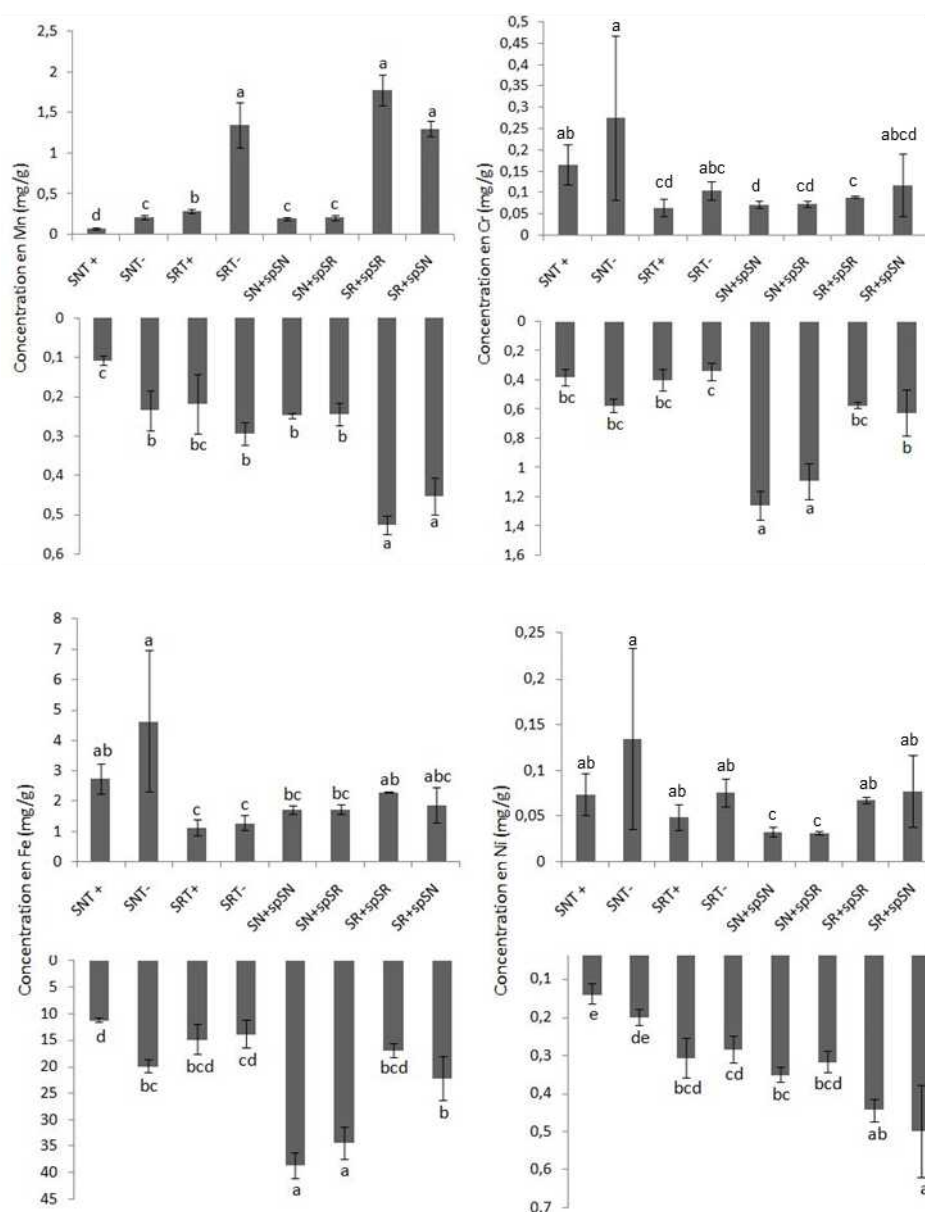


Figure 39 : Moyenne des concentrations en métaux dans les parties aériennes (vers le haut) et racinaires (vers le bas) de *Metrosideros laurifolia* soumis à différents traitements. SNT+ : sol naturel témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Une ANOVA à un facteur est réalisée indépendamment pour les parties aériennes et racinaires. Les lettres correspondent au test post-hoc de Kruskal-Wallis. Les modalités avec des lettres différentes présentent une différence significative au seuil de 0,05.

Toutefois lorsqu'on compare les teneurs fixées dans les parties aériennes à celles fixées dans les racines, des différences importantes apparaissent. C'est pourquoi les facteurs de translocations FT (rapport entre teneur de la partie aérienne sur teneur de la partie racinaire) ont été calculés (Figure 40). Ce facteur traduit la capacité des plantes à bloquer plus ou moins les métaux dans les racines, en les empêchant de monter vers les parties photosynthétiques. On constate ainsi clairement que sur sol naturel, les plants inoculés avec des spores de CMA ont des valeurs de FT des métaux Cr, Fe et Ni clairement plus basses que les témoins autoclavés et non autoclavés correspondants et ceci que ces CMA soient issus de sol naturel ou de sol restauré. À l'inverse sur sol restauré, les teneurs en ces 3 métaux ne baissent que légèrement par rapport au témoin autoclavé (SRT-), et pas du tout par rapport au témoin non autoclavé. Les FT pour Mn ne révèlent quant à eux pas d'information supplémentaire par rapport aux valeurs des teneurs directes elles-mêmes (figure non présentée).

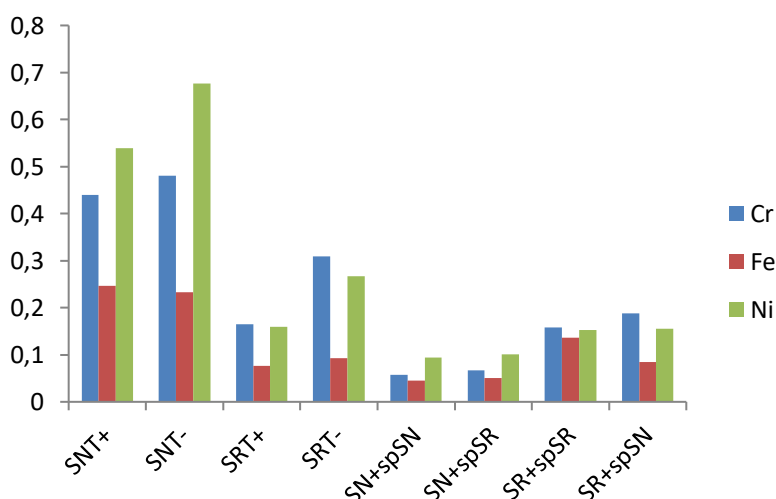


Figure 40 : Facteurs de translocation FT (rapport des teneurs des parties aériennes sur celles des parties racinaires) des métaux Cr, Fe, Ni chez *Metrosideros laurifolia* soumis à différents traitements. SNT+ : sol naturel Témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré.

L'interprétation de ces résultats est assez complexe : elle révèle bien que les CMA ont des effets de neutralisation des métaux toxiques, notamment en les fixant dans les racines, comme cela a été montré par différents travaux sur sols ultramafiques (Amir et al., 2019, 2013; Crossay et al., 2019) ou sur sols pollués en métaux (Andrade et al., 2010; Vivas et al., 2005). Par contre, les différences entre les communautés de CMA issues d'un sol naturel de référence ou d'un sol restauré ne sont pas significatives pour cet effet sur l'absorption des métaux. Il apparaît clairement aussi que ces symbiotes sont plus efficaces dans la protection des plantes contre ces éléments toxiques sur sol naturel que sur sol restauré, comme on l'a constaté pour les autres effets, et ceci en raison des carences notamment en P qui limitent l'activité des symbiotes.

3.2.3.4.5. Effets des CMA sur l'activité microbienne des sols :

Les CMA influencent l'activité microbienne globale des sols dans les pots de culture de *Metrosideros laurifolia* (Figure 41). On note ainsi que les sols témoins autoclavés ont les activités les plus faibles, bien que le sol autoclavé soit bien sûr recolonisé par de nombreux microorganismes. Sur sol naturel, ce sont les pots inoculés avec des CMA de sol naturel qui donnent les valeurs d'activités les plus élevées ; cependant la différence avec le même sol inoculé avec des CMA de sol restauré n'est pas significative, alors qu'elle est significativement supérieure à celle du témoin non autoclavé (SNT+). Sur sol restauré inoculé, l'activité microbienne globale est significativement supérieure en présence de CMA de sol naturel, en comparaison avec les CMA de sol restauré et est du même niveau que le témoin non autoclavé.

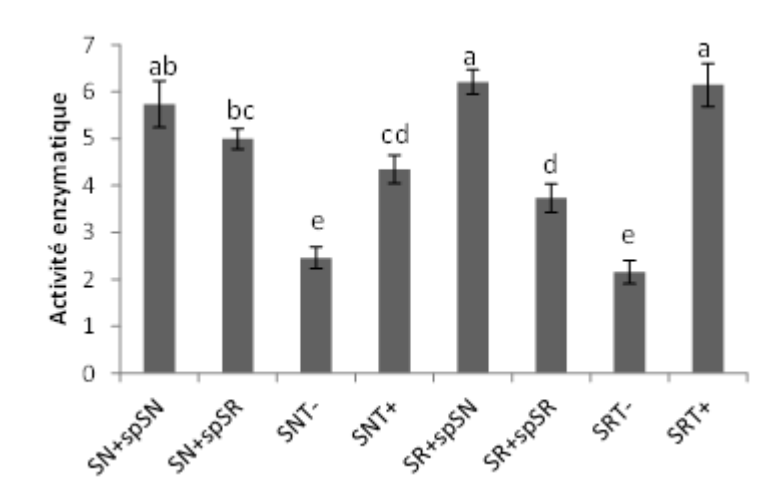


Figure 41 : Moyenne des activités phosphatases alcalines des sols dans les pots de *Metrosideros laurifolia* soumis à différents traitements (exprimé en μg de pNPP libéré par gramme de sol sec et par heure). SNT+ : sol naturel témoin non autoclavé ; SNT- : sol naturel témoin autoclavé ; SRT+ : sol restauré témoin non autoclavé ; SRT- : sol restauré témoin autoclavé ; SR+spSR : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol restauré ; SN+spSN : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SR+spSN : sol restauré inoculé avec des spores de CMA du sol naturel ; SN+spSR : sol naturel inoculé avec des spores de CMA du sol restauré. Les barres d'erreurs correspondent aux écart-types. Une ANOVA à un facteur est réalisée indépendamment pour les parties aériennes et racinaires. Les lettres correspondent au test post-hoc de Kruskal-Wallis. Les modalités avec des lettres différentes présentent une différence significative au seuil de 0,05.

Comment interpréter ces résultats ? Il ne s'agit probablement pas ici d'effet direct des CMA sur l'activité microbienne globale. L'effet des CMA s'exerce essentiellement à travers leur influence positive sur les plantes. En effet, lorsque la croissance des plantes est stimulée, celle-ci sécrète plus de composés carbonés dans la rhizosphère, ce qui a pour effet d'augmenter l'activité microbienne (Strullu, 1991). L'activité phosphatase du mycélium externe des CMA, s'il est bien développé, peut par ailleurs renforcer l'activité globale.

3.2.4. CONCLUSION

L'analyse de la densité des spores de CMA et de l'endomycorhization des racines prélevées sur des parcelles de milieu naturel de référence et des parcelles restaurées montre globalement une plus grande abondance des CMA en milieu naturel et conséquemment une mycorhization significativement plus importante dans ce milieu. Ce résultat est cohérent avec les connaissances actuelles que nous avons sur la symbiose endomycorhizienne sur sol ultramafique. En effet, il a déjà été remarqué que les substrats particulièrement pauvres favorisent moins la mycorhization du fait d'une photosynthèse moins importante et donc une quantité de carbone allouée à la symbiose moins élevée (Amir et al., 2019).

Les expérimentations en serre sur deux espèces végétales, dont une endémique et fréquente en milieu ultramafique (*Metrosideros laurifolia*), permettent d'apporter des réponses intéressantes à la question des différences entre milieu restauré et milieu naturel de référence :

- D'une façon générale, la symbiose endomycorhizienne est plus efficiente sur sol naturel de référence, à la fois en termes de stimulation de la croissance des plantes, de nutrition minérale et de rétention des métaux lourds, rétention réduisant leur impact sur l'activité des parties aériennes. Cette supériorité est vraisemblablement liée à la plus grande richesse en éléments minéraux du sol naturel, permettant une activité symbiotique plus forte.
- Les communautés de CMA issues du sol naturel de référence sont globalement plus efficaces en termes d'apport à la plante que celles issues du sol restauré. Leur effet sur la croissance est plus important, en relation avec une meilleure nutrition minérale.
- Par contre, aucune différence entre les deux communautés de CMA n'a été détectée chez *M. laurifolia* pour leurs effets sur l'absorption des métaux toxiques par la plante : les deux communautés induisent une baisse de la translocation de Fe, Cr et Ni vers les parties aériennes de la plante, mais uniquement sur sol naturel de référence.

Les différences entre les deux communautés de CMA en termes d'efficacité symbiotique sont probablement à relier aux différences de composition spécifiques de ces communautés. Cette différence de structure des communautés a été en effet notée pour les racines prélevées sur le terrain et confirmée également par l'analyse par séquençage à haut débit des communautés de CMA de ces deux types de sol.

Il faut donc admettre que la diversité des communautés de CMA en milieu restauré, même si elle est relativement importante, reste probablement insuffisante et encore structurellement et fonctionnellement différente de celle du milieu naturel de référence, avec une moindre efficacité symbiotique globale.

Cette dernière conclusion permet de suggérer que la structure des communautés de CMA peut constituer un indicateur de la qualité de la restauration écologique du milieu ultramafique. Toutefois, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer quelles différences précises de ces communautés avec celles du milieu naturel pourrait servir de marqueur pertinent de la qualité de la restauration du milieu.

Finalement, que faut-il retenir sur les champignons mycorhiziens à arbuscules ?

- Cette étude est la première portant sur une analyse métagénomique ciblée sur l'ensemble des Champignons Mycorhiziens à Arbuscules (CMA) réalisée en Océanie. Le couplage avec l'analyse des champignons et des bactéries la rend encore plus originale.
- Les CMA les plus présents dans les sols ultramafiques néo-calédoniens sont très majoritairement des Glomeraceae dominés par les genres *Glomus* et surtout *Rhizophagus*.
- Le très grand nombre de séquences d'ASV ne correspondant à aucune séquence de CMA présente dans les bases de données laisse présager d'un fort potentiel d'espèces encore non décrites dans ces sols ultramafiques.
- La restauration écologique d'un terrain nu, évoluant vers un écosystème plus fermé, s'accompagne d'une modification de la diversité en CMA. On voit notamment un enrichissement en *Glomus* dans les milieux plus stabilisés.
- Il est possible de suivre la chronoséquence aboutissant à un système fermé en observant la diversité en CMA.
- Le développement des mycorhizes à arbuscules est globalement plus important dans les milieux naturels de référence.
- Les expériences en serre montrent que la symbiose mycorhizienne est effectivement plus efficiente en termes de développement végétal sur sol naturel de référence que sur sol restauré.
- Les sols restaurés, sont moins favorables à la symbiose mycorhizienne, probablement en raison de leur moindre fertilité générale. Cette symbiose y est toutefois fonctionnelle.

En chiffres :

- 248 : C'est le nombre d'amplicons d'ADNr 18S générés à partir de 124 échantillons de sol (2 amplicons par ADN).
- 27 895 684 : C'est le nombre de séquences (reads) générées à partir de ces 248 amplicons.
- 4 429 429 : C'est le nombre de séquences retenues après filtration et contrôle qualité pour cette étude.
- 188 : C'est le nombre d'ASV (équivalent à des espèces moléculaires) obtenus à partir de ces séquences.
- 7 : C'est le nombre de genre de CMA identifiés dans les sols.
- 102 : C'est le nombre d'ASV correspondant au genre *Rhizophagus* qui est de loin le plus représenté dans les sols de Goro (comme dans la plupart des sols ultramafiques de Nouvelle-Calédonie).
- 9,15 : C'est le facteur d'augmentation de production de biomasse observé sur des plants de *Metrosideros laurifolia* inoculés avec des CMA provenant de milieu naturel.

3.2.5. PERSONNEL ENGAGE ET PRODUCTION SCIENTIFIQUE

Stagiaires :

- Amandine MAURIN. 2015. Comparaison de la diversité des champignons endomycorhiziens à arbuscules entre un milieu ultramafique naturel et un milieu revégétalisé. Université de Montpellier, Master 1 Biologie des Plantes et des Microorganismes, Biotechnologies, Bioprocédés, Spécialité Interaction Microorganismes, Hôtes, Environnement (4 mois) ;
- Thais GUILLEN OTERO. 2016. Diversity and functionality of arbuscular mycorrhizal fungi: A comparison between restored and natural ecosystems in ultramafic soils of New Caledonia. Application to ecological restoration. Université Libre de Bruxelles, Master 2 en Biologie des Organismes et Ecologie ; Vrije Universiteit Brussel, Master 2 in Biology, specialisation in Tropical Biodiversity and Ecosystems ; Université Pierre et Marie Curie – Paris 6, Master 2 Evolution, Patrimoine Naturel et Sociétés, Spécialité : Systématique, Evolution et Paléobiodiversité stage Master 2 (7 mois) ;
- Marine LOISEL. 2017. Diversité et fonctionnalité des champignons mycorhiziens à arbuscules : Une comparaison entre les écosystèmes restaurés et naturels des sols ultramafiques en Nouvelle-Calédonie. Application de la restauration écologique. Université de Pau et des Pays de l'Adour, Master 2 Biologie Moléculaire et Microbiologie de l'Environnement (5 mois) ;
- Aurore MARTINI. 2018. Comparaison entre un milieu ultramafique restauré et un milieu naturel adjacent, en Nouvelle-Calédonie : rôle et spécificité des effets des communautés de

3.2.6. REFERENCES

- Alguacil, M.D.M., Torrecillas, E., Hernández, G., Roldán, A., 2012. Changes in the diversity of soil arbuscular mycorrhizal fungi after cultivation for biofuel production in a Guantanamo (Cuba) tropical system. *PLoS One* 7, e34887. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034887>
- Amir, H., Cavaloc, Y., Laurent, A., Pagand, P., Gunkel, P., Lemestre, M., Médevielle, V., Pain, A., McCoy, S., 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi and sewage sludge enhance growth and adaptation of *Metrosideros laurifolia* on ultramafic soil in New Caledonia: A field experiment. *Sci. Total Environ.* 651, 334–343. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.153>
- Amir, H., Jourand, P., Cavaloc, Y., Ducouso, M., 2014a. Role of Mycorrhizal fungi in the alleviation of heavy metal toxicity in plants, in: *Mycorrhizal Fungi: Use in Sustainable Agriculture and Land Restoration*. pp. 241–258. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-45370-4>
- Amir, H., L'Huillier, L., Fogliani, B., Cavaloc, Y., Gensous, S., Jourand, P., Ducouso, M., Majorel, C., Hannibal, L., Saintpierre, D., Gunkel-Grillon, P., Pagand, P., Echevarria, G., Mouchon, L.-C., Bonis, M.-L., Montarges-Pelletier, E., Maggia, L., Wulff, A., 2014b. Caractérisation et fonctionnement du système sol/ plante/ microorganismes dans les maquis miniers. Perspectives d'applications pour la restauration écologique., CNRT. ed, Rapport CNRT. Projet ECOMINE BIOTOP - CNRT "Nickel & son environnement."
- Amir, H., Lagrange, A., Hassaïne, N., Cavaloc, Y., 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi from New Caledonian ultramafic soils improve tolerance to nickel of endemic plant species. *Mycorrhiza* 23, 585–95. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0499-6>
- Andrade, S.A.L., Grato, P.L., Azevedo, R.A., Silveira, A.P.D., Schiavinato, M.A., Mazzafera, P., 2010. Biochemical and physiological changes in jack bean under mycorrhizal symbiosis growing in soil with increasing Cu concentrations. *Environ. Exp. Bot.* 68, 198–207. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.11.009>
- Bordez, L., Jourand, P., Ducouso, M., Carriconde, F., Cavaloc, Y., Santini, S., Claverie, J.M., Wantiez, L., Leveau, A., Amir, H., 2016. Distribution patterns of microbial communities in ultramafic landscape: a metagenetic approach highlights the strong relationships between diversity and environmental traits. *Mol. Ecol.* 25, 2258–2272. <https://doi.org/10.1111/mec.13621>
- Borowicz, V.A., 2001. Do arbuscular mycorrhizal fungi alter plant-pathogen interactions. *Ecology* 82, 3057–3068. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2001\)082\[3057:DAMFAP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2001)082[3057:DAMFAP]2.0.CO;2)
- Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Holmes, S.P., 2017. Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *ISME J.* 11, 2639–2643. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.119>
- Crossay, T., Cilia, A., Cavaloc, Y., Amir, H., Redecker, D., 2018. Four new species of

arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota) associated with endemic plants from ultramafic soils of New Caledonia. *Mycol. Prog.* 17, 729–744. <https://doi.org/10.1007/s11557-018-1386-5>

Crossay, T., Majorel, C., Redecker, D., Gensous, S., Medevielle, V., Durrieu, G., Cavaloc, Y., Amir, H., 2019. Is a mixture of arbuscular mycorrhizal fungi better for plant growth than single-species inoculants? *Mycorrhiza*. <https://doi.org/10.1007/s00572-019-00898-y>

Fitzsimons, M.S., Miller, R.M., 2010. Serpentine soil has little influence on the root-associated microbial community composition of the serpentine tolerant grass species *Avenula sulcata*. *Plant Soil* 330, 393–405. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0213-9>

Gensous, S., 2014. Les champignons mycorrhiziens à arbuscules des sols ultramafiques de Nouvelle-Calédonie: Diversité, rôle dans l'adaptation des plantes à la contrainte ultramafique et interaction avec des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes. Université de la Nouvelle-Calédonie.

González-Chávez, M.C., Carrillo-González, R., Wright, S.F., Nichols, K. a, 2004. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environ. Pollut.* 130, 317–23. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.01.004>

Gourmelon, V., Maggia, L., Powell, J.R., Gigante, S., Hortal, S., Gueunier, C., Letellier, K., Carriconde, F., 2016. Environmental and geographical factors structure soil microbial diversity in new caledonian ultramafic substrates: A metagenomic approach. *PLoS One* 11, 1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167405>

Hammer, E.C., Rillig, M.C., 2011. The influence of different stresses on glomalin levels in an arbuscular mycorrhizal fungus-salinity increases glomalin content. *PLoS One* 6, e28426. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028426>

Hassan, S.E.D., Liu, A., Bittman, S., Forge, T.A., Hunt, D.E., Hijri, M., St-Amaud, M., 2013. Impact of 12-year field treatments with organic and inorganic fertilizers on crop productivity and mycorrhizal community structure. *Biol. Fertil. Soils* 49, 1109–1121. <https://doi.org/10.1007/s00374-013-0813-7>

Helgason, T., Fitter, A.H., Young, J.P.W., 1999. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising *Hyacinthoides non-scripta* (bluebell) in a seminatural woodland. *Mol. Ecol.* 8, 659–666.

Herrmann, L., Lesueur, D., Bräü, L., Davison, J., Jairus, T., Robain, H., Robin, A., Vasar, M., Wiriyakitnateekul, W., Öpik, M., 2016. Diversity of root-associated arbuscular mycorrhizal fungal communities in a rubber tree plantation chronosequence in Northeast Thailand. *Mycorrhiza* 26, 863–877. <https://doi.org/10.1007/s00572-016-0720-5>

Hildebrandt, U., Regvar, M., Bothe, H., 2007. Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. *Phytochemistry* 68, 139–46. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.09.023>

Jaffré, T., L'Huillier, L., 2010. La végétation des roches ultramafiques ou terrains miniers., in: L'Huillier, L., Jaffré, T., Wulff, A. (Eds.), *Mines et Environnement En Nouvelle-Calédonie : Les Milieux Sur Substrats Ultramafiques et Leur Restauration*. Noumea, Nouvelle-Calédonie, pp. 129–145.

Klironomos, J.N., Hart, M.M., 2002. Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. *Mycorrhiza* 12, 181–184. <https://doi.org/10.1007/s00572-002-0169-6>

Krüger, M., Krüger, C., Walker, C., Stockinger, H., Schüssler, A., 2012. Phylogenetic reference data for systematics and phylotaxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi from phylum to species level. *New Phytol.* 193, 970–994. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03962.x>

Krüger, M., Teste, F.P., Laliberté, E., Lambers, H., Coghlan, M., Zemunik, G., Bunce, M., 2015. The rise and fall of arbuscular mycorrhizal fungal diversity during ecosystem retrogression. *Mol. Ecol.* 24, 4912–4930. <https://doi.org/10.1111/mec.13363>

Lagrange, A., L’Huillier, L., Amir, H., 2013. Mycorrhizal status of Cyperaceae from New Caledonian ultramafic soils: Effects of phosphorus availability on arbuscular mycorrhizal colonization of *Costularia comosa* under field conditions. *Mycorrhiza* 23, 655–661. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0503-1>

Lambers, H., Mougel, C., Jaillard, B., Hinsinger, P., 2009. Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: An evolutionary perspective. *Plant Soil* 321, 83–115. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0042-x>

Le Tacon, F., Sélosse, M.-A., 1997. Le rôle des mycorhizes dans la colonisation des continents et la diversification des écosystèmes terrestres. *Rev. for. Fr.* XLIX.

Lee, J., Lee, S., Young, J.P.W., 2008. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiol. Ecol.* 65, 339–49. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00531.x>

Maherali, H., Klironomos, J.N., 2007. Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *Science* 316, 1746–1748. <https://doi.org/10.1126/science.1143082>

Morgan, B.S.T., Egerton-Warburton, L.M., 2017. Barcoded NS31/AML2 Primers for Sequencing of Arbuscular Mycorrhizal Communities in Environmental Samples. *Appl. Plant Sci.* 5, 1700017. <https://doi.org/10.3732/apps.1700017>

Oehl, F., Sieverding, E., Palenzuela, J., Ineichen, K., Alves, G., 2011. Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. *IMA Fungus* 2, 191–199. <https://doi.org/10.5598/ima fungus.2011.02.02.10>

Öpik, M., Moora, M., Liira, J., Zobel, M., 2006. Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe. *J. Ecol.* 94, 778–790. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01136.x>

Perrier, N., Amir, H., Colin, F., 2006. Occurrence of mycorrhizal symbioses in the metal-rich lateritic soils of the Koniambo Massif, New Caledonia. *Mycorrhiza* 16, 449–58. <https://doi.org/10.1007/s00572-006-0057-6>

Redecker, D., Schüssler, A., Stockinger, H., Stürmer, S.L., Morton, J.B., Walker, C., 2013. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza* 23, 515–31. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0486-y>

Schechter, S., Bruns, T., 2012. Edaphic sorting drives arbuscular mycorrhizal fungal community assembly in a serpentine / non-serpentine mosaic landscape. *Ecosphere* 3, 1–24.

Schoch, C.L., Seifert, K. a, Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, C.A., Chen, W., 2012. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 6241–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>

Schüßler, A., Schwarzott, D., Walker, C., 2001. A new fungal phylum , the Glomeromycota : phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 105, 1413–1421.

Schüßler, A., Walker, C., 2010. The Glomeromycota A species list with new families and new genera.

Simon, L., Lalonde, M., Bruns, T.D., 1992. Specific amplification of 18S fungal ribosomal genes from vesicular-arbuscular endomycorrhizal fungi colonizing roots. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 291–295.

Smith, F.A., Smith, S.E., 2013. How useful is the mutualism-parasitism continuum of arbuscular mycorrhizal functioning? *Plant Soil* 363, 7–18. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1583-y>

Smith, S.E., Read, D., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd ed, Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, Cambridge, UK. <https://doi.org/10.1016/B978-012370526-6.50019-2>

Smith, S.E., Smith, F.A., 2011. Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Nutrition and Growth: New Paradigms from Cellular to Ecosystem Scales. *Annu. Rev. Plant Biol.* 62, 227–250. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042110-103846>

Strullu, D., 1991. *Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées*, Lavoisier. ed.

Verbruggen, E., Kiers, T.E., 2010. Evolutionary ecology of mycorrhizal functional diversity in agricultural systems. *Evol. Appl.* 3, 547–560. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2010.00145.x>

Vivas, A., Barea, J.M., Azcón, R., 2005. Interactive effect of *Brevibacillus brevis* and *Glomus mosseae*, both isolated from Cd contaminated soil, on plant growth, physiological mycorrhizal fungal characteristics and soil enzymatic activities in Cd polluted soil. *Environ. Pollut.* 134, 257–266. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.07.029>

Wehner, J., Antunes, P.M., Powell, J.R., Caruso, T., Rillig, M.C., 2011. Indigenous arbuscular mycorrhizal fungal assemblages protect grassland host plants from pathogens. *PLoS One* 6, e27381. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027381>

Zarei, M., Hempel, S., Wubet, T., Schäfer, T., Savaghebi, G., Jouzani, G.S., Nekouei, M.K., Buscot, F., 2010. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to soil chemical properties and heavy metal contamination. *Environ. Pollut.* 158, 2757–65. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.04.017>

3.3. GENES ET EXPRESSIONS CHEZ LES CHAMPIGNONS ECTOMYCORHIZIENS

3.3.1. RAPPEL DES OBJECTIFS :

Dans ce volet, il avait été prévu de rechercher et d'identifier la présence et l'expression de marqueurs moléculaires des champignons symbiotiques ectomycorhiziens (ECM) dans les écosystèmes naturels ultramafiques non dégradés et de les comparer à ceux des zones restaurées après exploitation minière. Il s'agissait de montrer que la recherche, l'identification et l'expression de ces marqueurs moléculaires fongiques pouvaient servir de bioindicateurs du succès de la restauration écologique.

3.3.2. EVOLUTION DE LA REFLEXION ET DE LA STRATEGIE SCIENTIFIQUE PAR RAPPORT AUX OBJECTIFS PRESENTES DANS LE PROJET

Comme sollicité lors du montage du projet CNRT Bioindic (il était demandé d'adosser la demande financement CNRT Bioindic à celle d'autres projets scientifiques), nous avons choisi de mener notre étude en relation étroite avec les travaux (i) du projet ANR Adaspir (ANR-12-ADAP-0017 ADASPIR), et en parallèle (ii) avec ceux de la thèse de doctorat CIFRE d'Anne Houles (Université Montpellier/Entreprise minière KNS Koniambo SA).

- Le projet ANR (2012-2016) a porté sur la légumineuse fixatrice d'azote *Acacia spirorbis*, plante endémique de Nouvelle-Calédonie largement utilisée dans les stratégies de restauration écologique.
- La thèse de A. Houles a porté sur le principe de facilitation appliqué à la restauration écologique de sites miniers dégradés. Dans ce cadre, le suivi des communautés de champignons ECM au cours des successions végétales assistée par *A. spirorbis* a été réalisé. (Thèse CIFRE n°2013/1434 de l'université de Montpellier (ED 477 : GAIA), en partenariat avec la société minière KNS, Nouvelle-Calédonie. Soutenue publiquement le 24 novembre 2017, 242 p.)

Dans le cadre du projet CNRT Bioindic, nous avons choisi de conserver la légumineuse *A. spirorbis* comme plante modèle et de mener l'étude de la caractérisation et du fonctionnement des symbioses ectomycorhiziennes sur des substrats ultramafiques de zones restaurées avec *A. spirorbis* versus des zones de populations naturelles, ceci afin de mettre en évidence des bioindicateurs mycorhiziens de la restauration écologique.

3.3.3. MATERIEL ET METHODES

Pour rechercher, identifier et caractériser des marqueurs moléculaires ectomycorhiziens reflétant le fonctionnement de la symbiose ECM et du succès de la restauration écologique basée sur l'utilisation de plantes endémiques développant cette symbiose, nous avons envisagé de collecter des échantillons de mycorhizes prélevées sur *A. spirorbis* (i) dans des zones de massifs ultrabasiques exploitées par l'activité minière puis restaurées

écologiquement avec cette légumineuse, versus (ii) des zones de peuplement naturels d'*A. spirorbis* sur sols ultrabasiques.

A partir de ces échantillons de mycorhizes, nous avons envisagé d'extraire le matériel génétique ARN pour ensuite le séquencer par une approche « New Sequencing Generation » (NGS) (également qualifié de séquençage en masse ou séquençage haut-débit) et par approche différentielle mettre en évidence des marqueurs fongiques moléculaires spécifiques bioindicateurs du bon fonctionnement de la symbiose ECM et donc reflet du succès de la restauration écologique basée sur l'utilisation d'*A. spirorbis*.

3.3.3.1. Zones d'échantillonnage :

Différentes zones exploitées par l'activité minière, puis restaurées à l'aide d'*A. spirorbis*, ont été ciblées :

- celle du dispositif du projet CNRT Bioindic : la zone de Cofremi (également dénommée C), avec ses deux parcelles mises en places, C1 et C2 (se référer à la section 2.2 portant sur le matériel et méthodes communs et les modalités de sélection des sites) ;
- et, les zones étudiées dans le cadre du projet ANR Adaspir et de la thèse de doctorat d'Anne Houles, tous deux mentionnés juste auparavant. Il s'agit, ici, de zones restaurées avec *A. spirorbis* sur le massif de Koniambo, zones sur topsoils et sur stériles miniers.

Quant aux zones naturelles de références d'*A. spirorbis*, elles correspondent à celles du projet ANR Adaspir.

3.3.3.2. Campagne d'échantillonnage de racines d'*Acacia spirorbis*

La campagne d'échantillonnage de racines d'*A. spirorbis* a été réalisée sur un total de 6 sites de prélèvements répartis dans le Nord et dans le Sud de la Nouvelle-Calédonie. Parmi ces sites, 4 correspondent à des populations d'*A. spirorbis* plantées dans le cadre d'opération de revégétalisation.

Ce sont d'une part les sites de prélèvement retenus dans le Nord qui correspondent aux parcelles Trazy (21°00'21"S ; 164°50'18"E) et zone 7 (20°59'51"S ; 164°47'26"E) telles que décrites dans la thèse de A. Houles (2017) et d'autre part, les sites de prélèvement retenus dans le Sud correspondent aux parcelles C1 et C2 sur site C de la zone COFREMI tel que décrit dans dispositif du projet BioIndic.

De plus 2 autres sites correspondant à des populations naturelles d'*A. spirorbis* ont été retenus : il s'agit du site de Pandanus (21°01'44"S ; 164°46'54"E) tel que décrit dans la thèse de A. Houles et dans le Sud, un peuplement naturel d'*A. spirorbis* au pied du Mont Dore (22°15'18"S ; 166°36'48"E).

Cette campagne a été menée au cours du premier semestre 2016. Sur chaque site, 3 arbres ont été sélectionnés, et 3 échantillons par arbre : 3 échantillons de racines nues versus 3 échantillons de racines mycorhizées ont été prélevés et aussitôt conservés dans l'azote liquide sur le terrain avant d'être congelés à -80°C de retour au laboratoire à Nouméa. Au total, nous avons disposé de 108 échantillons dont l'extraction des ARN a été réalisée au cours du 2nd

semestre 2016 afin de procéder au séquençage du transcriptome par Illumina prévu début 2017.

3.3.3.3. Extraction, purification et envoi des ARN pour séquençage

Les ARN ont été extraits et purifiés selon le protocole publié dans l'ouvrage RNA : a laboratory manual (Rio et al., 2011).

Les échantillons d'ARN purifiés ont été envoyés pour séquençage par technologie à haut débit NGS (New sequencing génération) : nous avons contacté la société GATC Biotech (Eurofin GATC, Konstanz, Germany) qui a organisé le projet transcriptomique n° NG n° 12221. Le séquençage n'a pu être réalisé car les échantillons d'ARN ont été dégradés lors du transport de Nouvelle-Calédonie vers l'entreprise située en Allemagne. La raison principale de cet incident a été un stockage imprévu de longue durée à l'arrivée en Allemagne ayant entraîné la disparition complète de la carbo glace de conditionnement des ARN, cela malgré les recommandations que nous avons faites au transporteur.

Une deuxième série d'extraction des ARN a alors été entreprise sur les doubles des échantillons stockés et conservés à -80°C dans les congélateurs de la plate-forme du vivant du centre IRD de Nouvelle-Calédonie. Les ARN issus de cette deuxième série d'extractions ont été correctement acheminés jusqu'à la société chargée de réaliser le séquençage.

Lors du processus de séquençage à haut débit, les ARN nécessitent des étapes de purification complémentaires indispensables comme l'isolement des ARN polyA transcrits, lesquels sont le reflet de l'expression moléculaire des gènes. Ces ARN polyA sont en quantité très faible (< 1% à la quantité des ARN totaux). Ils doivent être isolés puis retranscrits en ADN pour séquençage via une 1ère réaction : la réaction de reverse transcriptase (RT-PCR). Les échantillons d'ARN totaux envoyés étaient issus de sols ultramafiques : ces sols présentent des concentrations en excès de métaux lourds (Co, Cr, Fe, Mn et Ni). Les ARN totaux envoyés contenaient encore trop de trace de ces métaux. Ces traces métalliques n'ont pas permis de procéder correctement à l'étape initiale de RT-PCR. L'équipe en charge du séquençage à haut débit a donc procédé à de nouvelles étapes de purification des ARN polyA jusqu'à épuisement de la source en polyA. Après plusieurs essais de purification de ces ARN polyA, les quantités purifiées n'étaient plus suffisantes pour procéder à l'étape initiale de RT-PCR. Ils nous ont donc sollicité pour réaliser une nouvelle campagne d'échantillonnage et d'extraction en quantité puis importante.

Comme d'une part, l'ensemble des frais de déplacement, d'échantillonnage sur le terrain, puis d'extraction des ARN, et d'autre part le coût des analyses extérieures (séquençage de l'ARN) représentaient la majeure partie du budget, nous avons préféré renoncer à cette approche moléculaire trop lourde et onéreuse (le coût total sortait du budget alloué) et avons recentré nos activités et nos résultats sur l'étude comparative, d'une part, sur la diversité des champignons ECM d'*A. spirorbis*, en zone restaurée jeune, en zone restaurée âgée, et ceci en comparaison à la diversité des ECM observée sur des *A. spirorbis* en zone naturelle ; et d'autre part, d'analyser les capacités de transfert de ces communautés de champignons ECM d'*A. spirorbis* utilisée comme plante nurse vers les autres plantes de succession à ectomycorhizes comme la Myrtacée *Tristanopsis guillainii*.

La capacité d'*A. spirorbis* à transférer ses propres communautés de champignons ECM à d'autres plantes ectomycorhizées utilisées dans les stratégies de la restauration écologique

sera regardée comme un bioindicateur ECM du succès de la restauration. En effet, le réseau commun de mycorhization est souvent l'acteur principal dans les relations de facilitation entre plantes (Duponnois et al., 2011).

Les résultats ont été obtenus et valorisés notamment dans la thèse CIFRE réalisée par A. Houles, travaux pour lesquels le budget CNRT a servi de façon complémentaire à celui du soutien financier CIFRE par l'entreprise KNS Koniambo et à celui du financement ANR Adapasir.

3.3.4. RESULTATS MAJEURS OBTENUS

3.3.4.1. Etat des connaissances de la diversité des champignons ECM associés à *Acacia spirorbis*

Sur sols ultramafiques, *A. spirorbis* est associé à une large communauté de champignons ectomycorhiziens diversifiée où les genres les plus représentés au niveau des apex ectomycorhiziens sont : *Tomentella* (13% du nombre total), *Cortinarius* (9,5%), *Boletus* (9,5%), *Sebacina* (9,5%), *Pisolithus* (6,5%), *Russula* (6,5%) ainsi que d'autres présents en proportions moindres, au total 3,2% pour les genres *Amanita*, *Boletellus*, *Clavulina*, *Lactarius*, *Phylloporus* et *Telephora* cumulés (Figures 42 et 43). Ces travaux ont confirmé la richesse de la diversité des symbioses ECM sur sols ultramafiques et donc soulève l'hypothèse du rôle de ces symbioses dans l'adaptation de la plante à la contrainte édaphique ultramafique, ce qui avait déjà été démontré chez *A. spirorbis* inoculé par *Pisolithus albus* (Jourand et al., 2014).

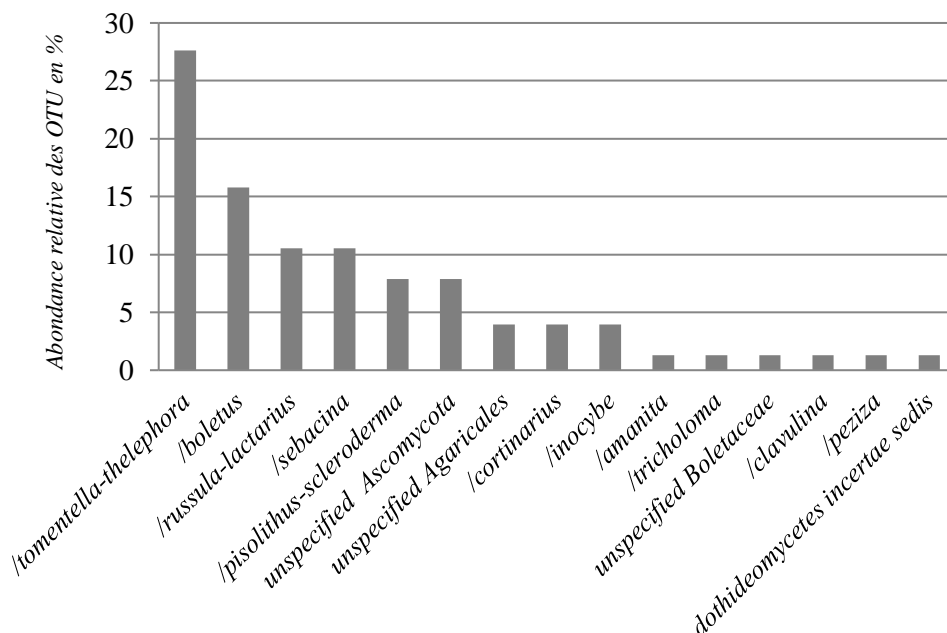


Figure 42 : Abondance relative des OTUs exprimée en pourcentage (%) en fonction des lignées fongiques.

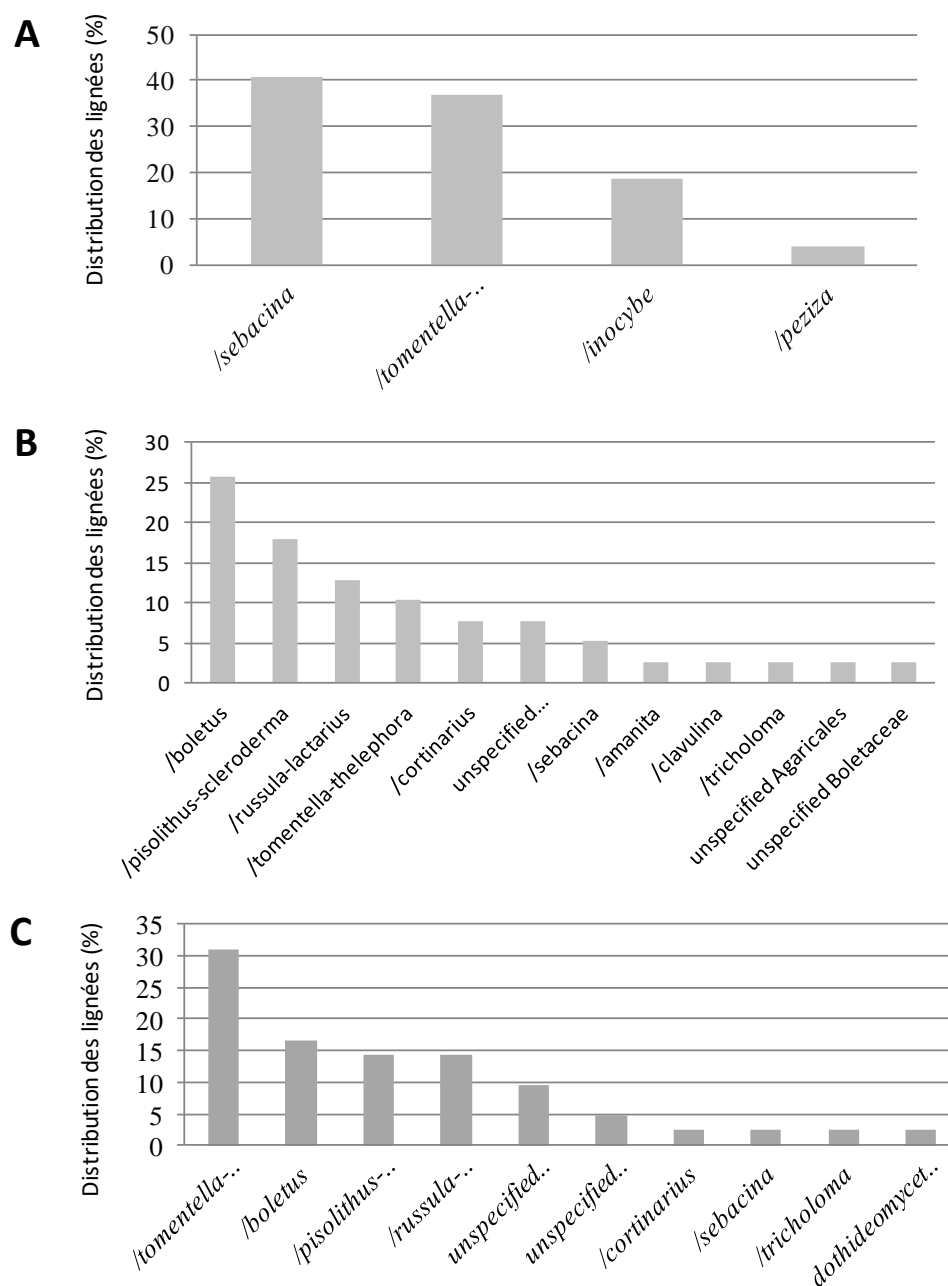


Figure 43 : Distribution des lignées fongiques en fonction des trois catégories de sol (A) calcaires, (B) ferralitiques et (C) volcano-sédimentaires.

L'ensemble de résultats ont été obtenus par des travaux cofinancés par les budgets du projet ANR-adapsir, CNRT Bioindic et la thèse CIFRE N° 2013/1434 et ont fait l'objet de deux publications : Houles et al., 2018, dans la revue Microbial Ecology : Ectomycorrhizal communities associated with the legume *Acacia spirorbis* growing on contrasted edaphic constraints in New Caledonia (<https://doi.org/10.1007/s00248-018-1193-1>) et Houlès et al., 2019, accepté pour publication dans la revue Mycorrhiza : Ectomycorrhizal facilitation using *Acacia spirorbis* Labill. as nurse plant enable to enhance ectomycorrhizal community composition of a target species: *Tristaniopsis callobuxus* Brongn. & Gris.

3.3.4.2. Caractérisation des potentiels ectomycorhiziens de sols et topsoils pour la restauration écologique d'un site dégradé assisté par le système plante nurse/plante cible.

Pour maîtriser les itinéraires techniques fondés sur la facilitation entre plantes, nous avons caractérisé par séquençage Illumina la diversité des champignons ectomycorhiziens présents dans un écosystème de référence et dans des plantations de l'espèce nurse, puis la capacité de leur topsoils à permettre la formation d'ectomycorhizes avec des espèces cibles de la restauration écologique. En effet, la compatibilité des communautés de champignons ectomycorhiziens est essentielle pour l'établissement dans le sol, d'un réseau commun de mycorhization, nécessaire au bon fonctionnement de la facilitation entre plante. Ainsi, nous avons mis en évidence la capacité de topsoils à améliorer l'installation de plantes ectomycorhiziennes comparé à un stérile minier, et surtout le potentiel d'*A. spirorbis* à créer du topsoil à fort potentiel symbiotique, particulièrement riche en champignons ectomycorhiziens. Lorsque *A. spirorbis* se développe, entre 5 et 15 ans, il va recréer un écosystème microbiologique dans le sol grâce à ses racines. Ainsi enrichis en ectomycorhizes, ce sol permet d'améliorer la mise en place d'espèces cibles de la restauration écologique. Ces améliorations se traduisent par : un meilleur développement des plants et un enrichissement des communautés ectomycorhiziennes associées aux racines (Figures 44 et 45). Les racines des jeunes plants ont pu facilement se faire inoculer par les ectomycorhizes présentes dans le sol, qui a été préalablement enrichi par *A. spirorbis*. Ces améliorations sont également visibles avec un topsoil prélevé en milieu naturel sous *T. guillainii*, même si ces améliorations restent moins importantes qu'avec des topsoils issus des plantations d'*A. spirorbis*. Il ressort également de cette étude que les *Thelephoraceae* sont une fois de plus dominants, ils constituent les fondations de la diversité ectomycorhizienne qui se met en place sur les racines des plants cibles.

Ces résultats nous permettent d'envisager l'utilisation d'*A. spirorbis* en restauration écologique des sites miniers dégradé. En effet, à ce stade, nous proposons l'utilisation d'*A. spirorbis* comme plante outil pour recréer un topsoil riche en champignons ectomycorhiziens diversifiés, compatibles avec les espèces cibles et des conditions environnementales favorables à l'implantation des espèces cibles de la restauration écologique.

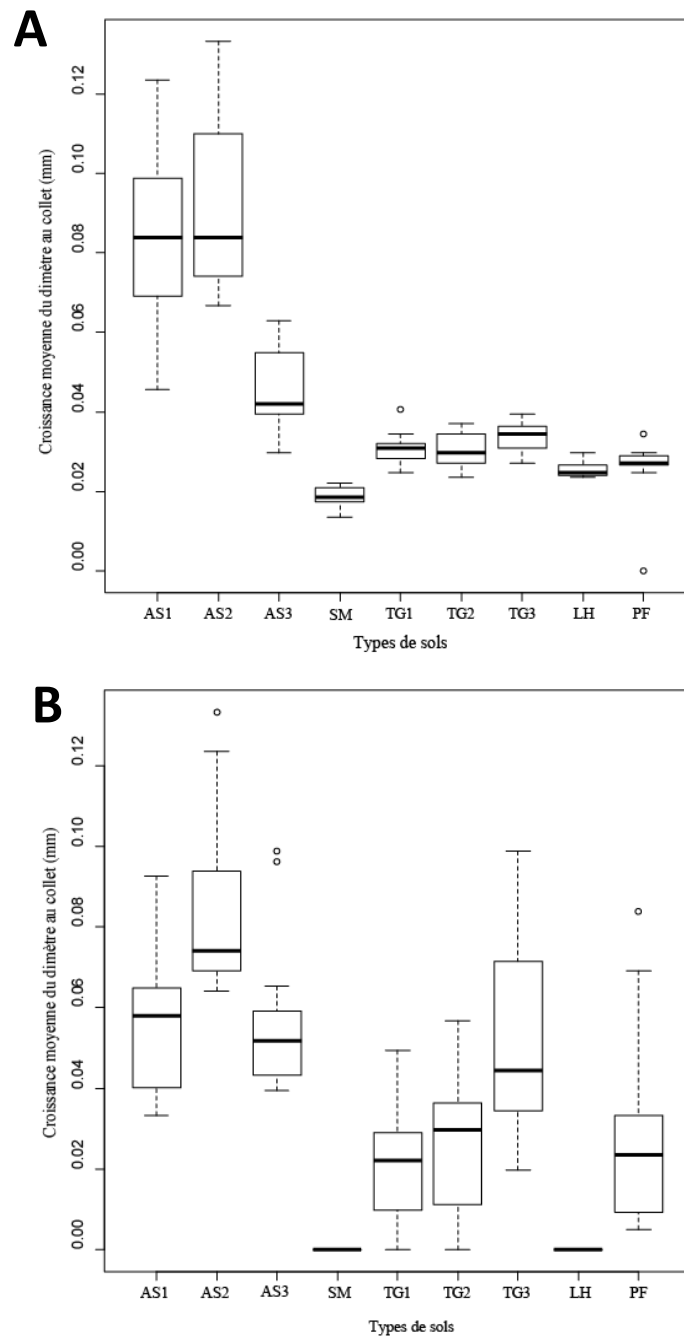


Figure 44 : Accroissement moyen de la hauteur des plants 14 mois après semis en fonctions des types de sols, (A) des plants d'*A. spirorbis*, (B) des plants d'*Eucalyptus tereticornis*.

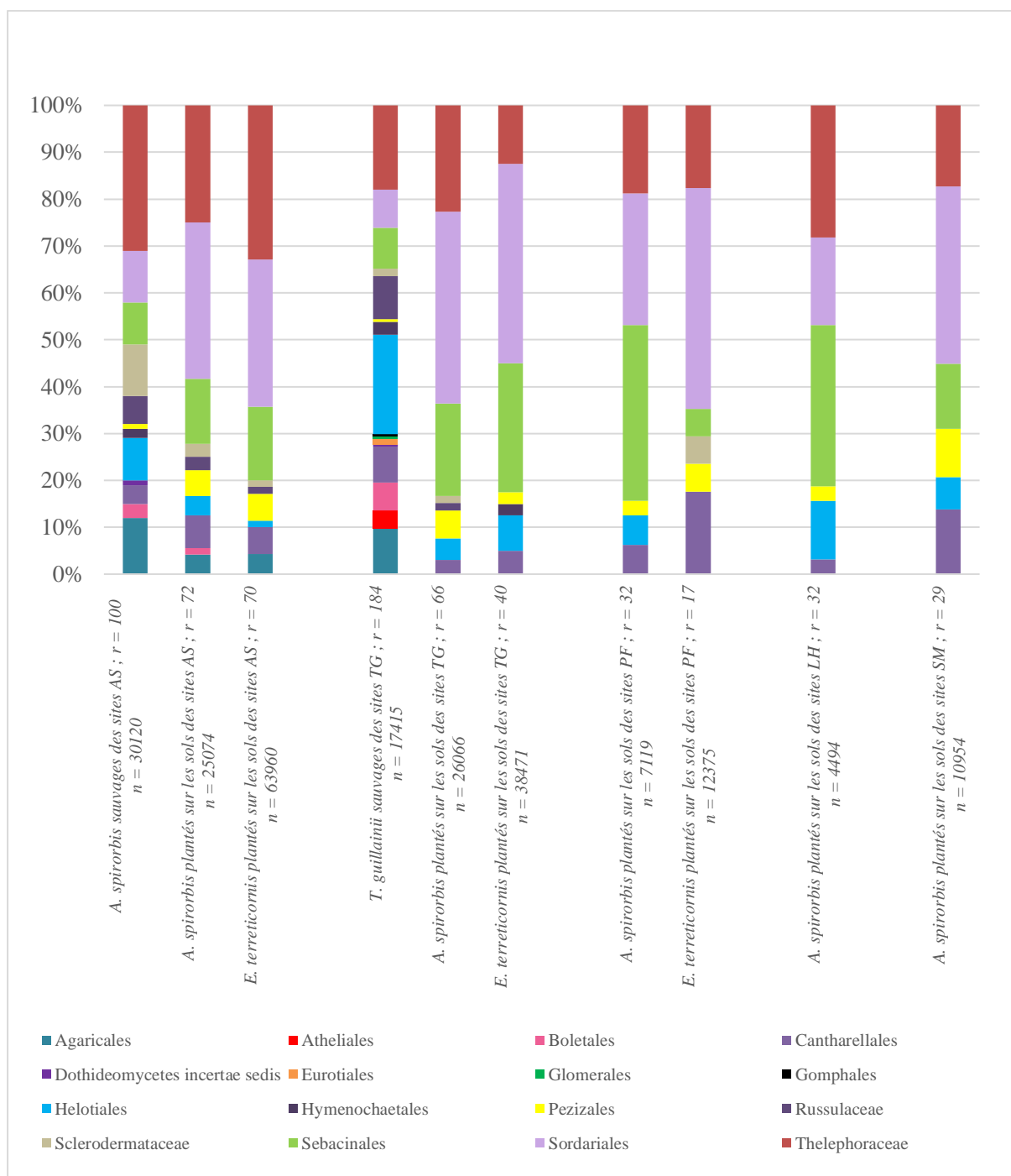


Figure 45 : Distribution des champignons des différentes modalités basées sur l'espèce hôte, la provenance du sol et les conditions de développement de l'espèce hôte selon la distribution des OTUs des lignées de champignons ectomycorhiziens identifiés. Pour chaque modalité, l'indice de Jackknife caractérisant la richesse spécifique observée (nombre d'OTUs) est précédé d'un « r » et le nombre de séquences obtenues est représenté par un « n ».

Ces résultats ont été obtenus par des travaux cofinancés par les budgets du projet ANR-adapsir, CNRT Bioindic et de la thèse CIFRE N°2013/1434 et feront l'objet d'une publication actuellement en préparation à paraître en 2020 (Characterization of topsoil ectomycorrhizal potentials for the ecological restoration of New Caledonian degraded mine sites assisted by the nurse plant / target plant system par Anne Houlès, Frédéric Mahé, Bryan Vincent, Laure Hannibal, Magali Patrois, Laurent Védi, Philippe Jourand, Marc Ducouso).

3.3.4.3. Essais de terrain de partage des communautés ECM entre la plante nurse *A. spirorbis* et la plante cible *T. guillainii*

Une plantation de *T. calobuxus*, Myrtaceae endémique (plante cible) a été réalisée à proximité immédiate d'*A. spirorbis* (plante nurse) âgés de plus de 15 ans, en vue de la restauration écologique d'un site minier dégradé (S21°00'21" ; E164°50'18"). Lors de la transplantation, en utilisant la caractérisation moléculaire des ITS de l'ADNr, nous avons caractérisé les communautés fongiques des *A. spirorbis* adultes et des jeunes plants de *T. calobuxus* à la sortie de la pépinière. Treize mois après la transplantation, nous avons refait cette caractérisation sur les *A. spirorbis* adultes et les jeunes plants de *T. calobuxus*. Nous avons observé des changements dans la composition des communautés fongiques de *T. calobuxus* avec une augmentation de la diversité, notamment l'apparition d'espèces affiliées aux /russulaceae, /boletus et /pisolithus-scleroderma et une diminution des espèces omniprésentes en pépinière telles que /sebacinales et /helotiales (Figure 46). Nous avons également observé une augmentation du nombre d'espèces partagées entre *T. calobuxus* et *A. spirorbis* (Figure 47). La proximité d'*A. spirorbis* a permis la diversification et l'adaptation de la communauté fongique ectomycorhizienne de *T. calobuxus*. Ces résultats nous amènent à recommander *A. spirorbis* comme plante nurse pour la restauration écologique des sites miniers. Les très faibles taux de croissance observés et leur grande variabilité entre individus produisent un ensemble de données qui ne permet pas, après seulement 13 mois de démontrer une différence ou une absence de différence entre les traitements.

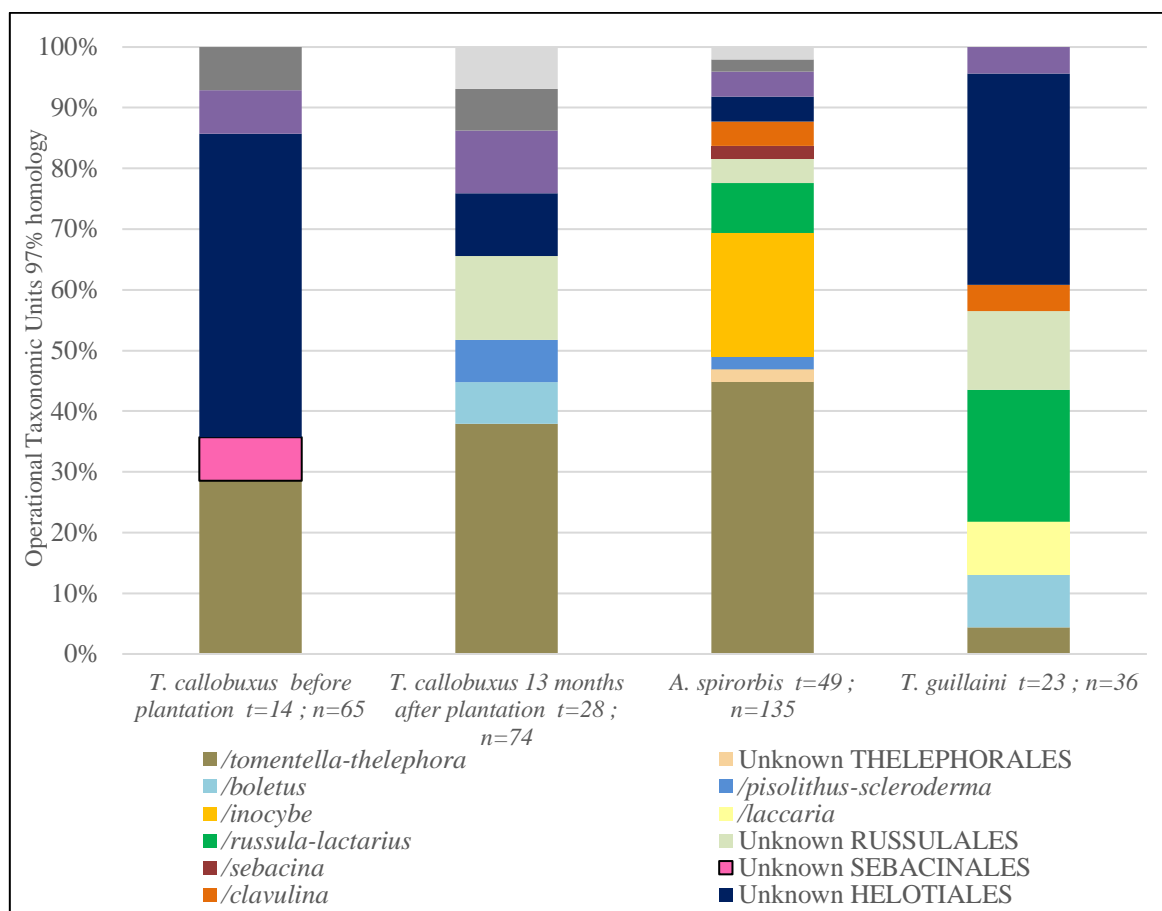


Figure 46 : Distribution taxonomique des champignons ectomycorhiziens associée à *T. callobuxus* avant la transplantation et 13 mois après la transplantation ; à proximité d'*A. spirorbis* âgés de 12 ans ; de *T. guillainii* des formations de maquis naturelles adjacentes. La richesse en espèces estimée à l'aide de l'indice de Jackknife (t) et le nombre de séquences obtenues (n) sont donnés pour chaque communauté.

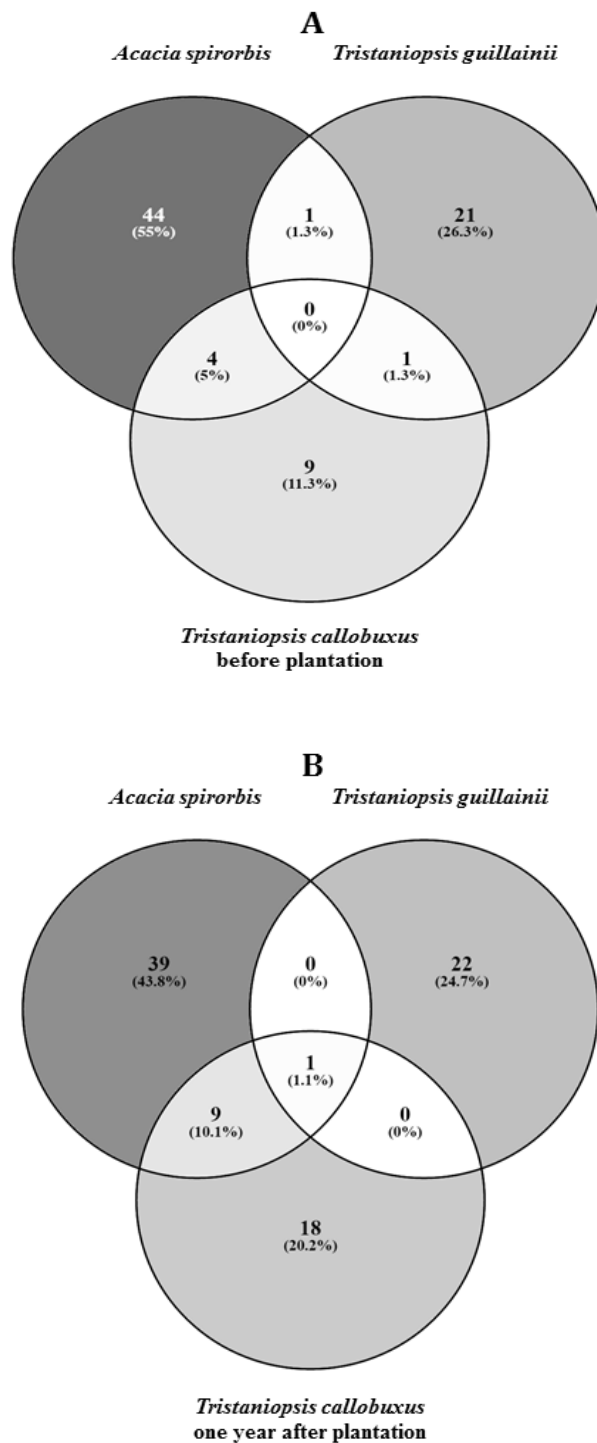


Figure 47 : Diagramme de Venn montrant le partage des champignons ectomycorhiziens (basé sur des homologies de séquence ITS à 97%) entre *A. spirorbis* de 12 ans, *T. guillainii* des formations naturelles adjacentes et les plants de *T. callobuxus*; (A) à la transplantation (fin de la pépinière); (B) 13 mois après la plantation à proximité d'*A. spirorbis* en tant que plante nurse.

Ces résultats ont été obtenus par des travaux cofinancés par les budgets du projet ANR-adapsir, CNRT Bioindic et la thèse CIFRE N°2013/1434 et ont fait l'objet de la publication Houlès et al., 2019, accepté pour publication dans la revue Mycorrhiza : Ectomycorrhizal facilitation using *Acacia spirorbis* Labill. as nurse plant enable to enhance ectomycorrhizal community composition of a target species: *Tristaniopsis callobuxus* Brongn. & Gris.

3.3.5. CONCLUSION

Dans le cadre de ce projet, nous avons recherché comment les ectomycorhizes pouvaient être utilisées comme bioindicateur de la réussite de la restauration d'un site minier après exploitation. En effet, parmi les écosystèmes qui se développent naturellement sur les terrains miniers avant exploitation, certains sont dominés, notamment par des Myrtaceae dépendantes de la symbiose ectomycorhizienne. Ainsi, la réimplantation de ces espèces doit être concomitante de la réintroduction des champignons ectomycorhiziens compatibles et adaptés. Les plantations de ces Myrtaceae, notamment du genre *Tristaniopsis*, même inoculés avec leurs champignons ectomycorhiziens se soldent par des échecs car le milieu ouvert ne correspond pas à l'écologie de la plupart des champignons ectomycorhiziens indispensables à la vie des *Tristaniopsis*, champignons qui disparaissent et la croissance trop lente des *Tristaniopsis* ne permet alors plus de stabiliser le sol et les plants meurent. Pour cela, nous avons mis en place trois essais de terrain fondés sur le principe de facilitation entre plantes, facilitation supportée par le réseau commun de mycorhization. Pour être fonctionnelle, elle doit remplir un critère essentiel : la compatibilité des champignons ectomycorhiziens entre l'espèce nurse et l'espèce cible. Afin de tester les capacités de cette espèce, *A. spirorbis* à permettre d'initier un processus de restauration écologique des écosystèmes dégradés par l'exploitation minière, un essai en pépinière et trois essais sur le terrain ont été mis en place. Ces essais ont permis de mettre en évidence la capacité d'*A. spirorbis* à jouer, grâce à la facilitation, un rôle de plante nurse pour des espèces cibles de la restauration écologique comme des espèces du genre *Tristaniopsis*. Ainsi, nous avons tout d'abord décrit la diversité des champignons ectomycorhiziens associés avec *A. spirorbis* puis, nous avons constatés leur capacité à s'associer sur le terrain aux *Tristaniopsis* grâce à la présence initiale d'*A. spirorbis*. Les capacités d'*A. spirorbis* à faciliter l'implantation d'autres espèces en améliorant leur survie, leur croissance et en leur permettant de disposer de partenaires fongiques ectomycorhiziens diversifiés sont décrites. Ces résultats ont conduit à proposer un itinéraire technique de restauration écologique des maquis miniers dégradés, itinéraire fondé sur la facilitation entre espèce utilisant *A. spirorbis* comme plante nurse. Des travaux sont actuellement en cours (S20°59'50" ; E164°47'25") en partenariat avec KNS, pour tester l'élimination de la plante nurse de l'écosystème à restaurer. Ces essais doivent permettre de proposer un calendrier d'élimination de la plante nurse pour laisser l'intégralité de la place aux plantes cibles de la restauration écologique.

Finalement, que faut-il retenir sur *Acacia spirorbis* et les champignons ectomycorhiziens qui lui sont associés ?

- La capacité d'une plante (nurse) à développer rapidement un réseau commun de mycorhization et de le partager avec des plantes (cibles) est un outil pour la restauration écologique de sites miniers dégradés.
- Afin d'évaluer cet outil, il faut d'abord vérifier la capacité de la plante nurse à croître et se développer en terrain nu, sur stérile minier notamment. Il faut ensuite utiliser deux indicateurs : 1) les champignons ectomycorhiziens mis en place par la plante nurse sont-ils capables de former des ectomycorhizes fonctionnelles avec les plantes cibles choisies et 2) Le transfert des ectomycorhizes de la plante nurse vers les plantes cibles est-il effectif.

En chiffres

- Plus de 150 taxons de champignons ectomycorhiziens, sur sols ferrallitiques, associés avec *A. spirorbis*.
- Parmi ces taxons, au moins 92% sont également présents chez les espèces de *Tristaniaopsis*, plante cible de la restauration écologique.
- Dans une expérience de contrôle du transfert des champignons ectomycorhiziens entre espèce nurse et espèce cible, alors que la croissance des espèces cibles est encore modeste, le taux d'espèces partagées de 8% à la plantation des plantes cibles, progresse pour atteindre 20% après un an.

3.3.6. PERSONNEL NON-PERMANENT ET PRODUCTION SCIENTIFIQUE

Thèse de doctorat :

- Houles A. 2017. Principe de facilitation appliqué à la restauration écologique de sites miniers dégradés : suivi des communautés ectomycorhiziennes au cours des successions végétales assistée par *Acacia spirorbis*. Université de Montpellier (ED 477 : GAIA), thèse CIFRE en partenariat avec la société minière KNS, Nouvelle-Calédonie. Soutenue publiquement le 24 novembre 2017, 242 p.

Stagiaire :

- Joussemet F. (2016, M2) : Suivi d'une succession végétale assistée par *Acacia spirorbis* via l'étude de la diversité ectomycorhizienne. SupAgro, Montpellier, France.

Liste des publications

Houles A., Vincent B., David M., Ducousso M., Galiana A., Juillot F., Hannibal L., Carriconde F., Fritsch E., Jourand P. (2018). Ectomycorrhizal communities associated with the legume *Acacia spirorbis* growing on contrasted edaphic constraints in New Caledonia. *Microbial Ecology* 76:964-975, <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1193-1>.

Houlès A., Joussemet F., Hannibal L., Patrois M., Védi L., Jourand M., Ducousso M. (2018). The Nurse plant *Acacia spirorbis* Labill. enhances ectomycorrhizal community composition of a target species: *Tristaniopsis calobuxus* Brongn. & Gris. *Mycorrhiza* (accepté pour publication).

3.3.7. REFERENCES

Duponnois R., Ouahmane L., Kane A., Thioulouse J., Hafidi M., Boumezzough A., Prin Y., Baudoin E., Galiana A., Dreyfus B. (2011). Nurse shrubs increased the early growth of *Cupressus* seedlings by enhancing belowground mutualism and soil microbial activity. *Soil Biology and Biochemistry*. 43, 2160–2168, <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.06.020>

Jourand P., Hannibal L., Majorel C., Mengant S., Ducousso M., Lebrun M. (2014). Ectomycorrhizal *Pisolithus albus* inoculation of *Acacia spirorbis* and *Eucalyptus globulus* grown in ultramafic topsoil enhances plant growth and mineral nutrition while limits metal uptake. *Journal of Plant Physiology* 171(2) : 164-172, <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.10.011>

Rio D.C., Ares M., Hannon G.J., Nilsen T.W. (2011). Purification of RNA Using TRIzol (TRI Reagent). *Cold Spring Harbor Protocols*, Vol. 10, No. 6, <https://doi.org/10.1101/pdb.prot5439>.

4. COMMUNAUTÉS ET POPULATIONS VÉGÉTALES

4.1. COMMUNAUTÉS VÉGÉTALES ET ÉCOLOGIE DES SEMENCES

4.1.1. ÉLÉMENTS D'INTRODUCTION

Cette partie dédiée exclusivement à l'étude de la dynamique de recolonisation par les plantes de zones restaurées par plantation a fait l'objet d'un travail de thèse réalisé par Melle Yawiya Ititiaty et financé en partie par le programme CNRT Bioindic (Ititiaty, 2019).

Plusieurs objectifs étaient à atteindre dans le cadre de ce travail de thèse :

- Il s'agissait d'évaluer les caractères de dispersion, dormance et germination des graines du cortège floristique relevé sur la zone restaurée (essentiellement des espèces pionnières). Puis par comparaison avec le cortège floristique des zones « originelles » environnantes, il s'agissait d'évaluer si des espèces potentiellement pionnières sont présentes dans ces zones alentours et tenter d'expliquer (mode de dispersion, type de sol, condition d'humidité...), pourquoi elles ont ou pas colonisé la ou les zones revégétalisées étudiées.
- Pour cela, il a fallu évaluer le cortège des espèces qui ont recolonisé la zone restaurée depuis la mise en place de la plantation. Cela devait permettre ainsi d'évaluer l'évolution de la colonisation de l'espace par les graines issues des espèces plantées et/ou provenant des milieux « originels » avoisinants. Certaines graines étant dormantes, il apparaissait également indispensable d'évaluer le contenu de la banque de graines de la zone revégétalisée, qui potentiellement participe à la mise en place de plantules et donc à la dynamique du milieu.
- Enfin, il s'agissait de mettre en évidence et de proposer des indicateurs biologiques permettant d'évaluer le succès de la restauration par comparaison avec les milieux naturels environnants.

Ainsi, tous ces objectifs ont été couverts dans le cadre de la thèse, mais par souci de clarté seuls les éléments spécifiques à l'étude de ce programme Bioindic sont présentés ici. Nous invitons le lecteur à se reporter au document de thèse pour avoir une vision de l'intégralité des travaux menés (Ititiaty, 2019).

En ce qui concerne la mise en place d'un système d'évaluation de la réussite de la restauration écologique, nous proposons ici d'appliquer pour la première fois en Nouvelle-Calédonie, le système des cinq étoiles de recouvrement proposé par les standards internationaux de la restauration écologique (SER, McDonald et al., 2016 ; cf Encadré 4); qui prend en compte cinq catégories d'attributs écosystémiques clés, considérés comme des indicateurs biologiques de rétablissement de la fonctionnalité du système. Pour cela, une

adaptation en lien avec les conditions biotiques et abiotiques particulières des terrains miniers a été réalisée pour rendre l'outil applicable.

Encadré 4 : Le système des cinq étoiles de recouvrement proposé par les standards internationaux de la restauration écologique (SER, McDonald et al., 2016)

- Les Standards internationaux de la restauration écologique définissent comme activité de restauration écologique toute activité dont le but ultime est le rétablissement des écosystèmes, dans la mesure du possible et par apport à un modèle autochtone local approprié (appelé ici un écosystème de référence), quelle que soit la période nécessaire pour atteindre le résultat du rétablissement.



STANDARDS INTERNATIONAUX POUR LA RESTAURATION ÉCOLOGIQUE – INCLUANT LES PRINCIPES ET LES CONCEPTS CLÉS

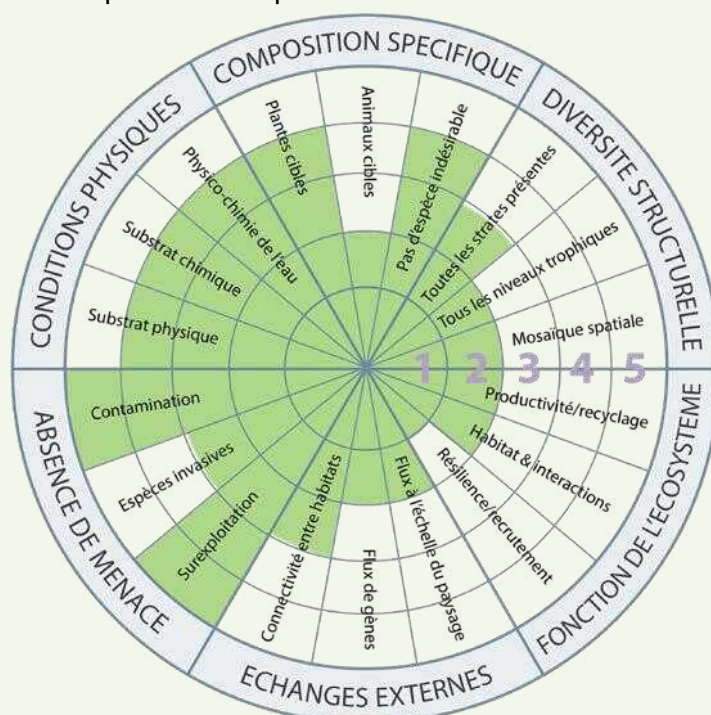
PREMIÈRE ÉDITION: Décembre 2016

Tein McDonald, George D. Gann, Justin Jonson,
Kingsley W. Dixon



- L'écosystème de référence est un modèle représentant approximativement la cible de la restauration. En l'absence d'écosystèmes intacts et appropriés du même type relictuel près du site à restaurer, le modèle de référence peut être dérivé de multiples sources d'informations sur les organismes vivants passés et présents et les conditions qui existent sur le site ou à proximité ; complétées par des informations sur les changements anticipés des conditions environnementales susceptibles d'entraîner des altérations des assemblages biologiques.

- Le rétablissement complet est défini comme l'état selon lequel toutes les catégories d'attributs clés de l'écosystème correspondent étroitement à celles du modèle de référence. Lorsque seuls des niveaux inférieurs de rétablissement sont possibles malgré tous les efforts, la restauration serait considérée comme un rétablissement partiel, bien qu'il soit raisonnable de s'attendre à ce que tout projet de restauration écologique ait besoin d'un rétablissement substantiel des organismes vivants autochtones de l'écosystème de référence.
- Six catégories d'attributs écosystémiques clés sont utilisées dans le système **des cinq étoiles de recouvrement**. Étant donné la très grande diversité d'écosystèmes pouvant impliquer une restauration écologique, ces catégories sont nécessairement larges et ne peuvent être mesurées que si elles sont subdivisées en variables suffisamment détaillées pour informer les objectifs opérationnels et les objectifs à long terme d'un projet donné. Les attributs ou sous-attributs propres au site dont l'écosystème est en cours de restauration sont ainsi identifiés à partir de l'écosystème de référence au stade initial de la planification d'un projet.
- Des indicateurs spécifiques et mesurables sont ensuite sélectionnés pour aider à évaluer si les cibles, les objectifs opérationnels et les objectifs à long terme, écologiques et socioéconomiques, sont atteints grâce aux interventions effectuées. Pour évaluer le succès, il est essentiel que chaque objectif de restauration articule clairement : 1) l'attribut ou sous-attribut manipulé, 2) le résultat souhaité (par exemple, augmentation, diminution, maintien), 3) l'ampleur de l'effet (par exemple, une augmentation de 40% de la couverture végétale) et 4) le délai. Un exemple est présenté ci-après :



Évaluation des progrès grâce à la « roue de rétablissement » représentant un hypothétique projet de reconstruction d'un an sur le point de passer à un état 4 étoiles. Ce modèle permet au gestionnaire d'illustrer le degré de rétablissement de l'écosystème en cours de traitement au fil du temps. Un praticien connaissant bien (1)- les objectifs à long terme et les objectifs opérationnels d'un site ainsi que leurs indicateurs propres au site et (2)- les niveaux de rétablissement atteints à ce jour, peut remplir les segments de chaque sous-attribut après une évaluation formelle ou informelle. Remarque : les étiquettes des sous-attributs peuvent être ajustées ou ajoutées pour mieux représenter un écosystème particulier.

4.1.2. MATERIEL ET METHODES

4.1.2.1. Inventaires floristiques en milieux naturels

Au sein des quatre formations végétales choisies, des inventaires botaniques ont été effectués sur des placettes de 400m² (20x20m), taille de placette permettant d'avoir une densité représentative des arbres ainsi que d'appréhender au mieux la diversité floristique (Munzinger *et al.*, 2008). Au total, 24 parcelles ont fait l'objet d'inventaires et ont été réparties de manière à retrouver 6 parcelles pour les 4 formations végétales retenues (Figure 48). Dans chaque placette le travail effectué est : (1) une description de la station (hauteur maximale de la végétation, topographie etc.), (2) un inventaire complet de la flore et (3) une attribution d'un indice d'abondance-dominance de Braun-Blanquet pour chaque espèce (Braun-Blanquet, 1932).

L'identification taxonomique a été réalisée sur le terrain. Lorsqu'il subsistait des doutes, des échantillons ont été récoltés afin de permettre une détermination *a posteriori* au laboratoire, à l'aide de l'Herbier de Nouméa à l'Institut de Recherche et Développement (I.R.D) ou celui de l'entreprise minière Vale NC et de la flore de Nouvelle-Calédonie (Aubreville, 1967-2004). Certaines espèces n'ont pu être identifiées qu'au niveau du genre du fait que les échantillons récoltés étaient stériles (ni fleurs, ni fruits).

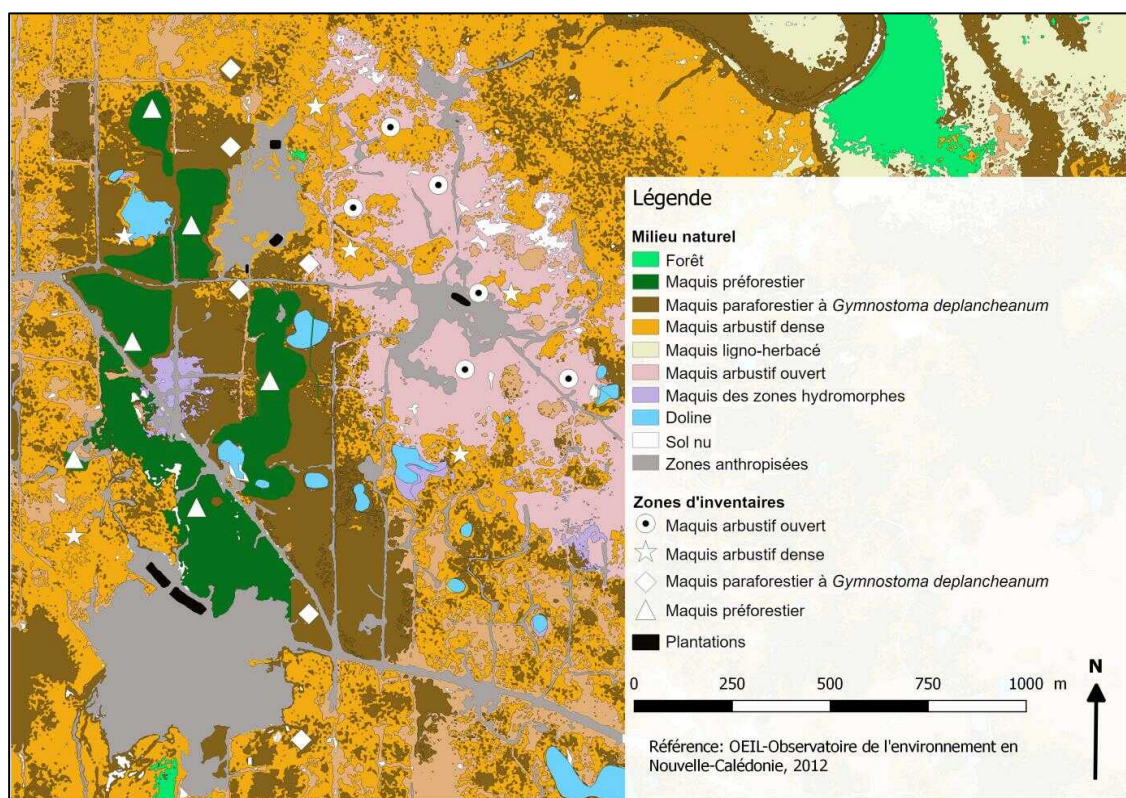


Figure 48 : Carte des différents milieux naturels de la zone d'étude et des parcelles d'inventaires sélectionnées.

Afin de vérifier l'homogénéité des données d'inventaire et que les formations végétales étudiées soient bien distinctes et représentatives de chaque milieu, nous avons converti les données semi-quantitatives issues de l'abondance dominance de Braun-Blanquet en données quantitatives (Medour, 2011). Ensuite, une Permanova a été effectuée sur ces données transformées ainsi qu'une NMDS pour représenter graphiquement les résultats de la Permanova. Ces analyses ont été réalisées sur le logiciel R version 3.3.1 (R Development Core Team 2008). Enfin, les listes d'espèces inventoriées dans chaque formation (Annexe 4) ont été analysées avec un diagramme de Venn pour définir les espèces « candidates » c'est-à-dire, les espèces communes aux quatre formations végétales sélectionnées, espèces présentant une forte plasticité phénotypique leur permettant d'être adaptées tant aux milieux ouverts qu'aux environnements forestiers. Pour ces dernières (37 espèces) ainsi que pour l'ensemble des espèces identifiées, des informations de dispersion et de germination ont été complétées à partir de la base de données mise en place au sein de l'IAC (Ititiaty, 2019). A noter que pour les 37 espèces candidates des observations de terrain ont permis de renforcer les données (Annexe 4).

4.1.2.2. Travaux menés en zones revégétalisées par plantation

4.1.2.2.1. Relevés effectués sur les zones revégétalisées

Les relevés sur les zones revégétalisées par plantation ont également été réalisés en 2016. Pour chacune des plantations étudiées, la liste des espèces plantées et leur implantation spatiale ont été vérifiées à partir des données fournies par le service préservation de l'environnement de Vale NC. Chaque individu planté a ensuite été recensé, noté comme vivant ou mort et sa phénologie a été relevée (fleurs, fruits, stérile).

Les quatre plantations ont été quadrillées entièrement de sorte que chaque individu planté (vivant ou mort) soit le centre d'une placette d'un mètre carré (Figure 49B). Les relevés sont effectués de la même façon pour toutes les plantations.

Sur chaque placette de la plantation, est identifié l'individu planté ou son emplacement potentiel (cas des individus morts) puis les mesures suivantes sont effectuées sur les individus vivants à l'aide d'un décimètre :

- mesure de la hauteur ;
- mesure de la longueur et de la largeur maximale de la cyme.

Une fois ces mesures effectuées, sont identifiés tous les recrûs (tous les individus non plantés qui peuvent être issus de régénération à partir du milieu naturel ou des espèces plantées), puis le nombre d'individus par espèce est dénombré. Au sein des recrûs, on distingue les plantules dont la hauteur est inférieure à 10 cm et les « hors plantules » dont la taille est supérieure à 10 cm. En effet, on estime qu'au dessus de 10 cm de hauteur, l'individu quelle que soit l'espèce, possède une taille et surtout un axe principal suffisamment développé pour lui permettre de se maintenir dans le temps. Pour les individus « hors plantules », la

hauteur est également mesurée. Dans cette étude, seules les espèces d'arbustes et d'arbres ont été prises en compte.

Dans chaque placette de la plantation, la position de chaque recrû est notée par sa distance et son angle au plant planté. A l'aide d'un décamètre, la distance de chaque plantule au plant planté est relevée par intervalle : [0-30], [30-60] et supérieur à 60 cm. De même à l'aide d'un rapporteur positionné au pied du plant, l'inventaire des plantules est réalisé par intervalle d'angle : [0-45], [45-90], [90-135], [135-180], [180-225], [225-270], [270-315], et [315-360] degrés. Pour s'orienter, on se place toujours de manière à être dos à la route et face à la formation végétale naturelle. Ainsi la position de chaque individu est notée afin de pouvoir retrouver la plantule mais aussi de pouvoir estimer une distance de dispersion lorsque le semencier potentiel sera identifié. Cependant, les données ne sont pas présentées ici, elles ont été bancarisées afin de pouvoir être exploitées dans les années à venir en réalisant de nouveau un relevé sur la zone afin d'évaluer la dynamique de la végétation.

Suite à l'identification des recrûs ne pouvant être issus que du milieu naturel (espèces non présentes dans la liste des espèces plantées), une prospection des semenciers potentiels a été réalisée en parcourant toutes les formations végétales autour des plantations et en relevant la position géographique des semenciers potentiels à l'aide du GPS. La distance minimale entre la plantation et le premier semencier potentiel a ensuite été évaluée sur le logiciel Qgis (version 2.18.25).

4.1.2.2.2. Evaluation de la banque de graines des zones revégétalisées par plantation

Pour rappel, l'échantillonnage de la litière et du sol a été effectué le 02 et 03 mars 2016 sur les sites revégétalisés en effectuant 12 prélèvements de 12 cm de diamètre par 3 cm de profondeur au sein de chacune des 4 « sous-parcelles » de 2 x 2 m mise en place dans les parcelles de 20 x 20 m (sept parcelles ont été tracées, dont deux sur le site A2 (nommées A21 et A22), deux également sur le site C (prénommées C1 et C2) et une pour A1, A3 et B). Les 12 prélèvements de topsoil issus de chaque sous-parcelle ont été homogénéisés en un échantillon composite (Figure 8). On obtient alors 27 échantillons composites de topsoil dont 4, 8, 4, 4 et 8 échantillons respectivement pour les parcelles A1, A2, A3, B et C. Chaque échantillon composite a été séché pendant 3 jours à température ambiante, tamisé avec un tamis d'une maille de 6,3 millimètres puis étalé sur une hauteur de 2 cm, en terrines au dessus d'une couche de vermiculite pour un meilleur drainage. Les terrines ont été placées le 10 mars 2016 en serre sous arrosage régulier et à température ambiante. Elles ont fait l'objet d'un relevé mensuel afin d'identifier les espèces présentes dans la banque de graines et de déterminer leur densité.

4.1.2.3. Evaluation des progrès de rétablissement des zones revégétalisées par plantations

4.1.2.3.1. Le choix de l'écosystème de référence

Un écosystème de référence autochtone local comme modèle ou cible pour la restauration a été choisi comme le préconise les standards internationaux de la restauration écologique (McDonald *et al.*, 2016). Cet écosystème de référence a été sélectionné parmi les quatre formations végétales retenues dans le cadre de cette étude. Ces milieux naturels diffèrent les uns des autres par leur composition spécifique, leur stratification, leur degré de fermeture et leur composition en arbres de grande taille. L'étude de la composition floristique de ces unités de végétation a montré un début de succession végétale entre le maquis arbustif dense (MD), le maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* (MPGd) et le maquis préforestier (MP) ainsi qu'un gap entre le maquis arbustif ouvert (MAO) et les trois unités de végétations précédentes (cf. section 4.1.3.1 ci-dessous). Ce gap a également été montré lors de l'étude des communautés de champignons et de bactéries au sein des ces végétations. Ainsi, considérant spécifiquement notre zone d'étude et dans l'état actuel des connaissances, le maquis arbustif dense peut être considéré comme le stade de la succession végétale qui devrait conduire à un milieu de type forestier. Par ailleurs, on observe lors des travaux miniers menés sur cette zone que le décapage de la végétation et de la strate supérieure cuirassique du sol laisse place à un substrat latéritique plus sensible à l'érosion. Ainsi, il apparaît préférable de restaurer une végétation dense (plutôt qu'ouverte) sur ces substrats afin d'atténuer leur érosion.

Ces éléments ont donc orienté le choix de l'écosystème de référence (cible à atteindre) vers le **maquis arbustif dense** (MD) et ce dernier a été utilisé dans sa composition et sa structure (Figure 49A) pour évaluer la trajectoire de rétablissement des zones revégétalisées par plantation. Les caractéristiques de cette formation végétale sont présentées dans le paragraphe 6.3.1. Afin de les établir et de les utiliser dans le cadre de l'évaluation, en complément des 6 zones utilisées pour l'inventaire floristique, 4 supplémentaires ont été choisies aléatoirement. Dans chacune des 10 zones, trois parcelles de 1m² ont été installées. Sur ces dernières, le nombre d'individus d'arbustes et d'arbres a été dénombré selon différents intervalles de hauteur : <10 cm,]10-50 cm],]50,100 cm],]100-150 cm],]150-200 cm] et > 200 cm. Ces données ont permis d'évaluer la densité moyenne d'individus par classe de hauteur.

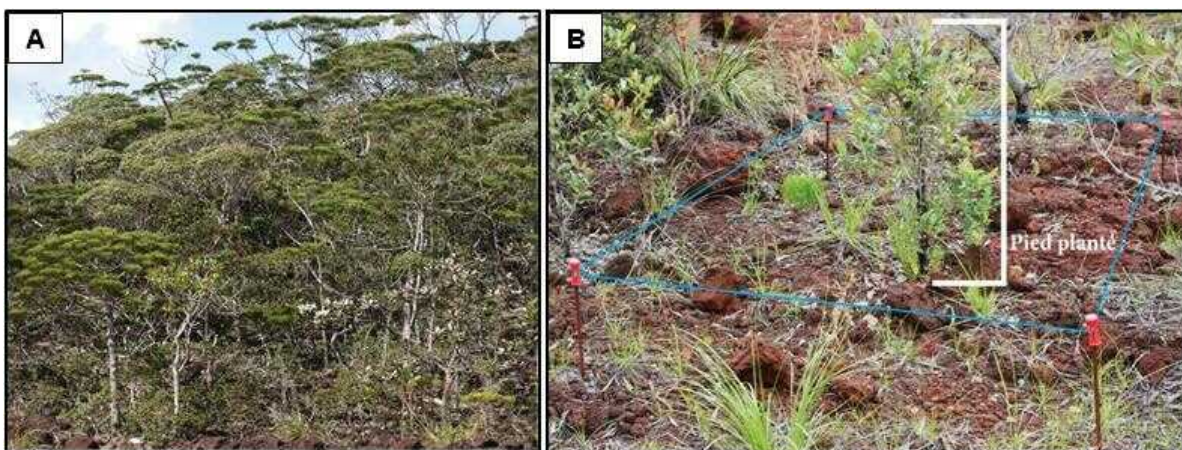


Figure 49 : (A) Photo d'un maquis arbustif dense sélectionné comme l'écosystème de référence ; (B) Photo prise *in situ* mettant en évidence le quadrillage mis en place sur la plantation pour effectuer les relevés (Pierre Loslier_IAC).

4.1.2.3.2. *Evaluation des progrès de rétablissement des zones revégétalisées par plantation*

Une évaluation des progrès de rétablissement des zones revégétalisées par plantation vers un maquis arbustif dense (MD) a été réalisée en se basant sur le système des 5 étoiles de rétablissement présenté dans les standards internationaux de la restauration écologique (McDonald *et al.*, 2016). Ce système semi-quantitatif est basé sur l'effet des facteurs biotiques et abiotiques. Il fournit une évaluation comparative de la façon dont les attributs d'un écosystème se rétablissent après traitement (dans notre cas après plantation). En se basant sur cette méthode, des sous-attributs (ci-dessous en gras) ont été choisis au sein des catégories d'attributs écosystémiques clés (ci-dessous en italique souligné). Les données relevées pour chaque écosystème revégétalisé et celles de chaque sous-attributs sont comparés au MD afin de leur donner une note ou un indice de progrès compris entre 1 et 5 (Annexe 5). Ces indices permettent ensuite de créer un diagramme tel que proposé par McDonald *et al.* (2016) réadapté dans le cadre de ce travail de thèse. Il est conseillé de consulter l'Annexe 5 pour une meilleure compréhension des sous-attributs ci-dessous et de l'explication de leur indice :

1) *L'absence de menaces* : Lorsque l'indice est proche de 5, il y a absence de menace. Pour les sous-attributs suivants, les indices ont été définis à dire d'expert en fonction de la présence de la menace, de sa distance à la plantation et des ressources utilisées pour lutter contre la menace.

- **Absence d'espèces indésirables végétales et animales** telles que les espèces envahissantes végétales et les espèces végétales natives non présentes dans le MD mais très représentées dans la plantation ; mais aussi celle des cerfs (*Cervus rusa timorensis*) et des cochons sauvages (*Sus scrofa*) responsables d'abrouissements, de frottis, de piétinements sur la végétation et de fouilles au niveau du sol.

- **Absence de menaces anthropiques** comme les routes, l'exploitation du bois et l'exploitation minière.

- **Absence de feux** : historique de fréquence des feux dans la zone d'étude (observations réalisées depuis la mise en place des plantations).

2) La composition spécifique : pour les sous-attributs ci-dessous, l'indice de rétablissement est de 1, 2, 3, 4 et 5 si le pourcentage est respectivement compris entre 0 et 5%, 6 et 15%, 16 et 40%, 41 et 80%, et supérieur à 80%.

- Les **espèces communes** entre chaque plantation et le MD sont évaluées en nombre et en pourcentage (ratio : nombre espèces communes aux plantations et au MD/ nombre d'espèces total en MD).

- Les **espèces barochores** de chaque plantation sont déterminées en nombre et en pourcentage (ratio : nombre d'espèces barochores en zone revégétalisée/ nombre d'espèces barochores en MD).

- Les **espèces anémochores** de chaque plantation sont également évaluées en nombre et en pourcentage selon le même principe.

- Enfin les **espèces dispersées par les animaux** (espèces zoochores incluant endozoochores, chiropterochores et myrmecochores) de chaque plantation sont déterminées en pourcentage selon le même principe.

3) La structure des communautés : pour les sous attributs ci-dessous, les classes de désignation de l'indice de rétablissement sont les mêmes que pour ceux de la composition spécifique à l'exception du **recouvrement des houppiers** pour lequel l'indice est de 1, 2, 3, 4 ou 5, si le pourcentage est respectivement compris entre 0 et 5%, 6 et 25%, 26 et 40%, 41 et 60%, et supérieur à 60%.

- La **hauteur moyenne** (en cm) des plants plantés vivants de chaque plantation est calculée puis évaluée en pourcentage par rapport à la hauteur moyenne de la végétation du MD.

- Le pourcentage de **recouvrement des houppiers** des plants plantés est évalué. Pour ce faire, est évaluée dans un premier temps la surface totale occupée par les houppiers des plants plantés vivants au sein de chaque plantation. Cette somme est ensuite divisée par la superficie de la plantation puis rapportée en pourcentage. Ce dernier est comparé à celui du maquis arbustif dense pour définir la valeur de l'indice pour chaque plantation.

- Le **nombre d'individus par m² (densité) par classe de taille** (<10 cm,]10-50 cm],]50,100 cm],]100-150 cm],]150-200 cm] et > 200 cm) est calculé à partir du rapport entre le nombre d'individus (plantés et recrûs) divisé par la superficie de la plantation et ce pour chaque classe de taille. Le quotient obtenu pour chaque classe est ensuite transformé en pourcentage par rapport au nombre d'individus moyen relevé en MD. Ces pourcentages permettent alors de définir une valeur de l'indice pour chaque classe de taille, puis un indice moyen est calculé pour chaque plantation (Annexe 6), indice ensuite reporté comme indice de rétablissement (Annexe 5).

- La **densité des plants supérieurs à 10 cm de hauteur par m²** est évaluée à partir de la somme du nombre d'individus plantés vivants et du nombre de recrûs dont la taille est supérieure à 10 cm (plants considérés comme viables à long terme) divisée par la superficie

de la plantation. Ce quotient est ensuite transformé en pourcentage par rapport au nombre d'individus de taille supérieure à 10cm relevés en MD dans 1m² soit 22 plants/m².

- La **densité des plants inférieurs à 10 cm de hauteur au m²** est également calculée pour évaluer la dynamique de recolonisation et ce à partir du nombre de recrûs de taille inférieure à 10 cm divisé par la superficie de la plantation. Ce quotient est ensuite transformé en pourcentage par rapport au nombre d'individus de taille inférieure à 10cm relevé en MD dans 1m² soit 19 plants/m².

4) La fonctionnalité de l'écosystème : le choix s'est porté sur l'évaluation de la fonctionnalité des espèces plantées afin d'établir leur dynamique (survie, capacité de reproduction et de régénération)

- Le **taux de survie des espèces plantées** est exprimé en pourcentage à partir du rapport entre le nombre d'individus plantés vivants et le nombre total d'individus plantés. L'indice de rétablissement est de 1, 2, 3, 4 et 5 si le pourcentage est respectivement compris entre 0 et 30%, 31 et 60%, 61 et 70%, 71 et 80%, et supérieur à 80.

- La **capacité de reproduction par plantation** est exprimée en pourcentage à partir du rapport entre le nombre de plants plantés vivants fertiles et le nombre total de plants plantés vivants. L'indice de rétablissement est de 1, 2, 3, 4 et 5 si le pourcentage est respectivement compris entre 0 et 20%, 21 et 40%, 41 et 60%, 61 et 80%, et supérieur à 80%.

- La **capacité de régénération par plantation** est exprimée en pourcentage à partir du rapport entre le nombre de recrûs au stade plantule issus des espèces plantées et le nombre moyen de plantules relevé dans l'écosystème de référence (MD), caractéristique de sa capacité de régénération. L'indice de rétablissement est de 1, 2, 3, 4 et 5 si le pourcentage est respectivement compris entre 0 et 15%, 16 et 30%, 31 et 50%, 51 et 75%, et supérieur à 75%.

5) Les échanges entre les écosystèmes :

- Le **flux de dispersion à l'échelle du paysage** est déterminé par rapport à la distance entre la lisière de la plantation et celle de la végétation dense la plus proche (MD, MPGd et MP). Cette distance correspondrait à celle que devrait effectuer une espèce pour atteindre la plantation et ce à partir de la végétation choisie. C'est pourquoi, les indices de rétablissement ont été déterminés en fonction des distances médianes moyennes de chaque mode de dispersion tel qu'évaluées par Thomson *et al.* (2011). On obtient donc : de 0-20 m (indice 5), 20-40m (indice 4), 40-80m (indice 3), 80-160m (indice 2) et 160-245m (indice 1) pour les distances de dispersion des espèces barochores (5), anémochores (4) et endozoochores (3, 2 et 1) respectivement.

- La **connectivité entre habitats**, c'est-à-dire entre chaque plantation et le milieu environnant prend en compte un facteur supplémentaire à savoir celui de la surface. En effet, elle est évaluée pour définir l'indice de rétablissement selon la distance de la zone tampon créée virtuellement autour des plantations (réalisée sur SIG), dans laquelle on retrouve à minima la même superficie de végétation dense (MD, MPGd et MP) que celle de la plantation (Figure 50). Ce choix fait arbitrairement se base sur le fait que plus la distance, à laquelle la surface de milieux naturels environnants est équivalente à celle de la plantation, est faible, plus les chances que ces deux patchs se connectent et aient des interactions sont grandes. L'indice de rétablissement est de 5, 4, 3, 2 et 1 si la superficie de végétation naturelle, égale

ou supérieure à celle de la plantation, se retrouve dans la zone tampon de 0-20, 0-40, 0-80, 0-160 et celle supérieure à 160m respectivement.

- **La diversité spécifique apparue sur chaque plantation** est exprimée en pourcentage à partir du rapport entre le nombre d'espèces apparues (hors espèces plantées) et le nombre d'espèces total de la plantation (espèces plantées + espèces apparues). L'indice de rétablissement est de 1, 2, 3, 4 et 5 si le pourcentage est respectivement compris entre 0 et 20%, 21 et 40%, 41 et 60%, 61 et 80%, et supérieur à 80%.

- **L'enrichissement de chaque plantation** est exprimé en pourcentage à partir du rapport entre le nombre de recrûs issus des milieux alentours et le nombre total des recrûs issus de toutes espèces confondues (espèces plantées + espèces apparues). L'indice de rétablissement est de 1, 2, 3, 4 et 5 si le pourcentage est respectivement compris entre 0 et 15%, 16 et 30%, 31 et 40%, 41 et 60%, et supérieur à 60%.

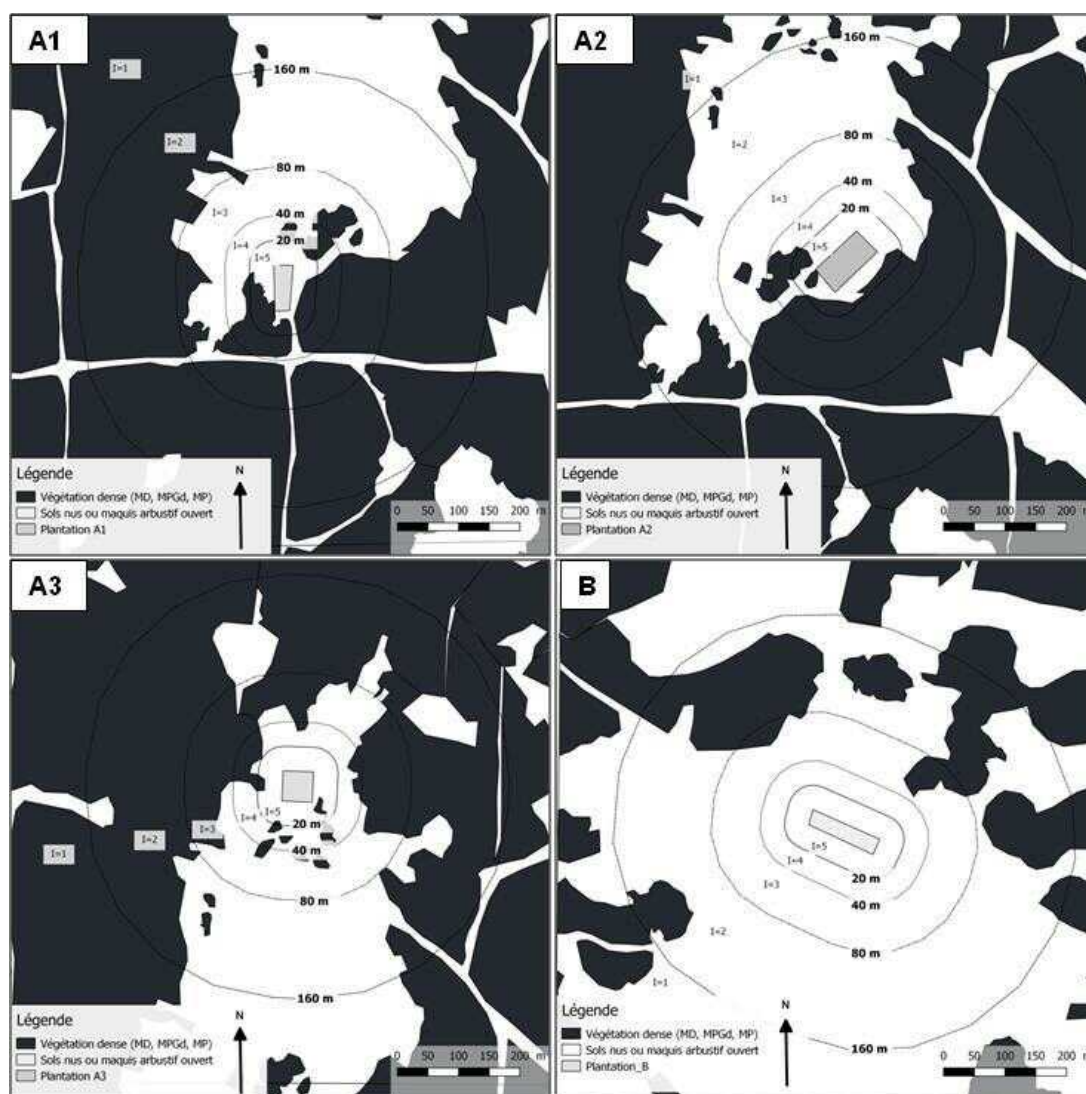


Figure 50 : Cartographie des plantations (A1, A2, A3 et B) et de leur connectivité avec le paysage environnant illustrée par les zones tampons situées à 20, 40, 80 et 160 mètres du bord des plantations. L'indice I, indiqué dans chaque zone tampon, est retenu dès lors que la surface de végétation naturelle de type dense (MD, MPGd, MP) est équivalente ou supérieure à celle de la plantation.

4.1.3. ELEMENTS DE RESULTATS

4.1.3.1. Inventaire botanique en milieux naturels

L'inventaire botanique en milieux naturels a permis de déterminer la présence de 174 espèces (ptéridophytes, gymnospermes et angiospermes inclus) au sein de notre zone d'étude (Annexe 4). La richesse spécifique des formations suit une dynamique de succession végétale avec une richesse spécifique croissante à partir du maquis ouvert arbustif vers les formations forestières (Tableau 11). En effet, le maquis arbustif ouvert (MAO), le maquis arbustif dense (MD), le maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* (MPGd) et le maquis préforestier (MP) comptent respectivement 75, 96, 111 et 124 espèces (Tableau 11) dont 65, 88, 101 et 114 espèces ligneuses respectivement.

Tableau 11 : Nombre d'espèces pour les quatre formations végétales retenues.

Formation végétale	Maquis arbustif ouvert	Maquis arbustif dense	Maquis paraforestier à <i>G. deplancheanum</i>	Maquis préforestier
Nombre d'espèces	75	96	111	124

Une gradation non métrique multidimensionnelle (NMDS) a été appliquée sur les données des relevés floristiques. Elle illustre le fait que chaque formation végétale est bien distincte des autres (Figure 51), les p-values de la Permanova étant toutes inférieures à 0,5. Le maquis arbustif ouvert (MAO) est la formation la moins homogène ; cela s'explique par une formation plus ouverte avec un espacement plus important entre les végétaux et par conséquent une répartition plus hétérogène des plantes. Les formations MD-MPGd-MP sont ordonnées dans un ordre bien caractéristique, ce qui tend à montrer un début de succession végétale entre ces formations (Figure 51).

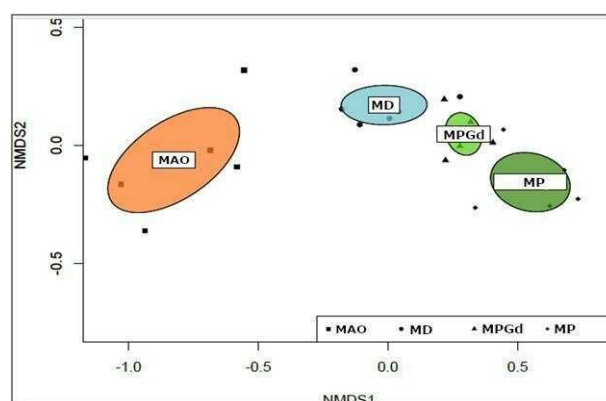


Figure 51 : NMDS ordination bidimensionnelle de la structure de la communauté floristique par formation végétale. Le coefficient de "stress = 0.06279115. L'ordination était basée sur les dissemblances de la matrice de distance. Les ellipsoïdes représentent la limite de confiance d'erreur standard (95%) par formation. Les emplacements des ellipsoïdes dans chaque diagramme indiquent leur degré de similitude (Loslier, 2016).

Une analyse plus fine milieu par milieu permet de caractériser les différentes formations végétales présentes, leur état d'ouverture, leur composition spécifique et certaines de leur caractéristiques biotiques et abiotiques :

- Le maquis arbustif ouvert (MAO) :

Sur le plateau de Goro, il s'établit sur des blocs de cuirasse avec une faible quantité de matière organique, une forte amplitude thermique et un bilan hydrique négatif. Les espèces végétales y sont héliophiles et adaptées à la sécheresse (sclérophylles pour de nombreuses espèces). La strate herbacée est presque inexistante et représentée par des Orchidées et quelques Cypéracées comme les genres *Costularia* ou *Shoenus*. Les conditions extrêmes de cet écosystème créent une véritable barrière écologique pour les espèces ayant une moins forte plasticité comme celles des formations forestières. Ces mêmes conditions affectent directement la croissance des végétaux et leur hauteur moyenne y est de 1,50m. Sur les 6 parcelles du MAO un total de 75 espèces a été inventorié (Annexe 4). Le moyen de dispersion prédominant est la zoochorie (51%). L'anémochorie et la barochorie sont représentées dans des proportions plus faibles, respectivement 43% et 6%.

- Le maquis arbustif dense (MD) :

Le milieu est plus riche du fait de la présence de matière organique (litière) et de la densité importante des végétaux. En effet, nous avons évalué que 1m² de ce milieu est recouvert à 80%. Le microclimat qui en découle est plus favorable aux espèces moins spécialisées (sensible à l'insolation) et de nouvelles espèces s'y établissent. Cette colonisation par des nouvelles espèces se traduit entre le MAO et le MD par une richesse spécifique qui augmente légèrement mais singulièrement puisque 43 espèces du MD ne sont pas présentes dans le MAO, alors qu'à l'inverse 19 espèces du MAO ne se retrouvent plus en MD (Annexe 4). La végétation dépasse rarement les 6 mètres et la hauteur moyenne se situe à 2,50m. L'inventaire a permis d'identifier 92 espèces ligneuses dont 67, 19 et 6 sont respectivement zoochores, anémochores et barochores.

L'échantillonnage par strate (intervalles de hauteur) a permis de dénombrer en moyenne (N=30) 19, 7, 4, 3, 3 et 5 individus pour les classes suivantes : [0-10 cm],]10-50 cm],]50,100 cm],]100-150 cm],]150-200 cm] et supérieure à 200 cm respectivement (Annexe 6).

- Le maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* (MPGd) :

Cette formation est dominée par l'espèce *Gymnostoma deplancheanum* qui joue un rôle important tant dans l'ombrage qu'elle apporte, que par la création importante de litière. La végétation, constituée de 111 espèces, y est moins dense que dans le MD et la canopée atteint régulièrement 8 mètres quant à la hauteur moyenne de la végétation elle se situe à 3,50m. Les espèces communes entre cette formation et le MD est importante avec 80 espèces (Annexe 4). Les espèces uniquement présentes dans le MPGd et pas dans le MD (33 espèces) sont pour beaucoup des espèces forestières strictes comme le *Psychotria leratii*. A l'inverse 20 espèces du MD ne se retrouvent plus en MPGd. Le nombre d'espèces zoochores, anémochorie et barochores y sont de 71%, 24% et 5%.

- Le maquis préforestier (MP) :

C'est la formation qui précède la forêt humide, la végétation, constituée de 125 espèces, y est moins dense que dans le MPGd et la canopée dépasse couramment les 10 mètres. La hauteur moyenne de la végétation se situe aux alentours de 4m. Le nombre d'espèces uniquement présentes dans cette formation par rapport au MPGd est de 38 espèces (Annexe 4). Parmi ces espèces, nous avons pu observer des grands individus de *Planchonella wakere* qui est une espèce forestière stricte. A l'inverse 26 espèces du MPGd ne se retrouvent plus en MP. La différence entre le stade initial de MAO avec cette formation est importante puisque ce sont 80 espèces qui ne se retrouvent que dans le MP et pas dans le MAO. Cependant, 57 espèces sont communes aux deux formations soit environ un tiers de la richesse spécifique totale des deux formations réunies.

En complément, un diagramme de Venn (Figure 52) a été réalisé à partir des données de l'inventaire et a permis de délimiter les différentes associations possibles entre les formations végétales. Ce diagramme présente le nombre d'espèces communes entre les quatre formations végétales prises deux à deux, trois à trois ainsi que celles qui sont spécifiques à chaque végétation et enfin celles qui sont communes aux quatre types de végétation. Ainsi, on relève qu'il y a 11, 5, 8 et 28 espèces spécifiques retrouvées respectivement en MAO, MD, MPGd et MP (Figure 52). On note surtout sur cette même figure, 37 espèces communes aux quatre formations végétales retenues. Ce sont ces 37 espèces que nous considérons comme espèces dites "candidates" à la restauration car présentant une forte plasticité phénotypique leur permettant d'être adaptées tant aux milieux ouverts qu'aux environnements forestiers. Elles sont donc considérées comme prioritaires à étudier et à maîtriser afin de les introduire dans les programmes de restauration futurs. Dans ce cadre, le travail de thèse de Itiaty (2019) propose les voies et moyens de multiplier et produire ces espèces à partir de leurs graines.

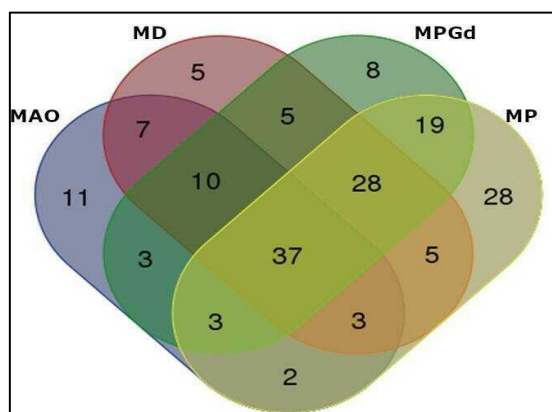


Figure 52 : Diagramme de Venn appliqué à la flore de quatre formations végétales du plateau de Goro : MAO: Maquis arbustif ouvert, MD: Maquis arbustif dense, MPGd: Maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* et MP: Maquis préforestier (Loslier, 2016).

4.1.3.2. Travaux menés en zones revégétalisées par plantations

4.1.3.2.1. Relevés effectués sur les zones revégétalisées

L'évaluation des plantations a permis de dénombrer 27, 38, 23 et 42 espèces (toutes espèces confondues : plantées + apparues) respectivement dans les plantations A1, A2, A3 et B (Tableau 12). Un nombre peu élevé d'espèces (3 et 4) a été planté sur les plantations de l'ancienne pépinière : A1, A2, et A3 alors que sur la plantation B, 34 espèces ont été plantées.

Bien que le nombre d'espèces plantées soit élevé, l'apport de diversité spécifique de cette zone revégétalisée est faible avec seulement 8 espèces apparues comparé aux trois autres plantations. En effet, les plantations de l'ancienne pépinière ont une diversité apparue plus importante avec l'apport de 24, 34 et 19 espèces au sein des plantations A1, A2 et A3 respectivement (Tableau 12).

Tableau 12 : Nombre d'espèces plantées, apparues et totales par plantation.

	A1	A2	A3	B
Nombre d'espèces plantées	3	4	4	34
Nombre d'espèces apparues	24	34	19	8
Nombre d'espèces totales	27	38	23	42

Les relevés ont également permis d'évaluer le nombre d'individus par plantation. Les résultats montrent que la plantation A2 a le nombre d'individus le plus importants (7712) alors que la plantation A3 a le nombre d'individus le plus faible (748, Figure 53). L'enrichissement est également plus important en A2 avec 2829 individus recrûs issus des milieux alentours, mais elle est plus faible pour la plantation B avec seulement 18 individus recrûs issus de l'extérieur des plantations (Figure 53).

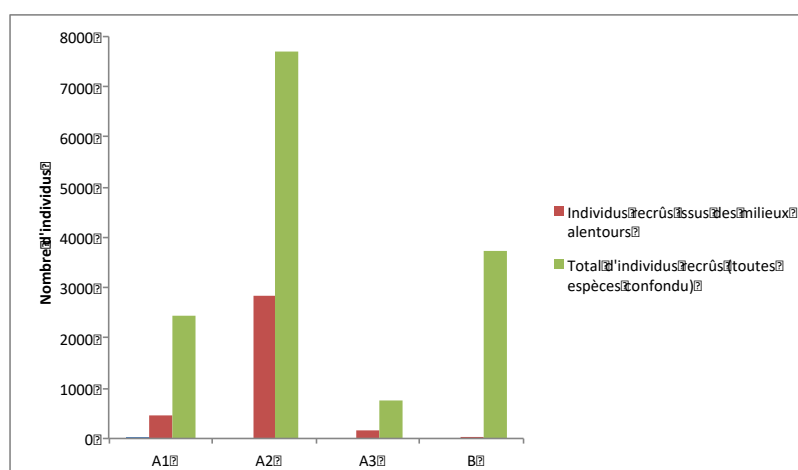


Figure 53 : Enrichissement des plantations avec le nombre d'individus recrûs issus des milieux alentours et le nombre total d'individus recrûs.

Il a été choisi de présenter ici l'exemple de la plantation B pour l'évaluation de l'apport de diversité.

L'étude de la plantation B a donc permis de recenser 18 individus d'espèces non plantés et donc issus du milieu naturel. On dénombre 8 espèces appartenant à 8 genres et familles différents. Les nouvelles espèces présentes sur la plantation B sont : *Acridocarpus austrocaledonicus* (Malpighiaceae), *Coelospermum crassifolium* (Rubiaceae), *Flagellaria neocaledonica* (Flagellariaceae), *Geniostoma densiflorum* (Loganiaceae), *Lomandra insularis* (Asparagaceae), *Oxera neriifolia* (Lamiaceae), *Solmsia calophylla* (Thymelaeaceae) et *Styphelia veillonii* (Ericaceae). Concernant la dispersion de ces espèces, la zoochorie est majoritairement utilisée (5/8). Le *Coelospermum crassifolium*, le *Flagellaria neocaledonica*, le *Lomandra insularis*, l'*Oxera neriifolia* ainsi que le *Styphelia veillonii* utilisent ce type de dispersion. Parmi ces espèces les fruits du *Styphelia veillonii* ont pu être régulièrement observés consommés par le *Zosterops xanthochroa* et occasionnellement consommés par la perruche à front rouge (*Cyanoramphus saisseti*). La seule espèce anémochore est l'*Acridocarpus austrocaledonicus*. Quant à *Geniostoma densiflorum* et *Solmsia calophylla* le type de fruit suggère une dispersion par barochorie or la distance de dispersion sur une assez longue distance dans le cas de cette plantation oriente plutôt vers une dispersion par les animaux.

Sur ces 8 nouvelles espèces, deux : *Oxera neriifolia* et *Coelospermum crassifolium* n'ont pas de semencier potentiel proche, les premiers pieds se trouvant à plus de 500 mètres de la plantation dans des formations de maquis dense, para et préforestier. La réponse la plus probable de leur installation sur la plantation est qu'une graine ce soit mélangée avec celles semées sur la parcelle qui jouxte la plantation côté ouest. Les semenciers potentiels des autres espèces ont été retrouvés à des distances comprises entre 70 et 250m (Figure 54). Les nouvelles espèces proviennent essentiellement des patchs paraforestiers à *Gymnostoma deplancheanum* et du maquis dense, seul l'*Acridocarpus austrocaledonicus* ne provient pas d'une zone naturelle, il a été planté lors d'une autre campagne de restauration. La plantation B ne possède donc pas de nouvelles espèces anémochores. Les espèces avec les distances de dispersion les plus importantes sont des espèces zoochores (*Flagellaria neocaledonica*, *Styphelia veillonii*) qui proviennent du maquis dense situé au Nord à des distances comprises entre 130 et 250m. Cependant le *Lomandra insularis* et le *Geniostoma densiflorum* proviennent potentiellement de zones plus proches, comprises entre 70 et 130 m. Les premiers pieds de *Solmsia calophylla* ont été retrouvés à environ 250m au Sud de la plantation.

Durant les prospections de terrain, des perruches à front rouge ont été observées avec des fruits dont les caractéristiques morphologiques sont semblables à celles du *Solmsia calophylla*. Les fruits n'étaient pas consommés mais ils semblaient être utilisés comme jeu ou pour l'entretien de leur bec. Cette théorie pourrait expliquer la provenance de cette espèce sur la plantation et permettrait une dispersion d'une distance importante. Comme vu précédemment, des inventaires floristiques ont eu lieu autour de la plantation et notamment dans la zone Est où se trouvent les semenciers potentiels de *Lomandra insularis* et *Geniostoma densiflorum*. Sur les espèces inventoriées dans deux quadrats réalisés dans le maquis ouvert arbustif et l'autre dans le maquis dense arbustif, on retrouve 4 espèces en commun avec les nouvelles espèces sur la plantation : *Coelospermum crassifolium*, *Lomandra insularis*, *Solmsia calophylla* et *Styphelia veillonii*. Bien que le *C. crassifolium*, le *S. calophylla* et le *S. veillonii* aient été inventoriés dans ces quadrats, les plantes n'étaient pas aptes à fournir des fruits/graines et n'ont donc pas été considérés comme des semenciers potentiels.



Figure 54 : Localisation des semenciers potentiels des nouvelles espèces (Loslier, 2016).

Concernant la répartition de ces nouvelles espèces, elle est scindée en deux zones bien distinctes : une partie au Sud et une au Nord de la plantation (Figure 55). La partie sud correspond à la zone la plus exposée aux vents et où les végétaux plantés ont les plus faibles hauteurs. La partie nord correspond à une zone protégée des vents dominants et où les végétaux plantés atteignent une hauteur moyenne d'environ 1.50m. Dans la partie sud 5 espèces se sont établies : *Solmsia callophylla*, *Geniostoma densiflorum*, *Lomandra insularis*, *Flagellaria neocaledonica* et *Styphellia veillonii*. Le nord de la plantation est colonisé par 6 espèces : les espèces énumérées précédemment à l'exception *Geniostoma densiflorum* et on y ajoute *Coelospermum crassifolium* et *Acridocarpus austrocaledonicus*. Un pied d'*Oxera neriifolia* est quant à lui au centre-ouest de la plantation exposée aux vents et où les végétaux plantés ont les plus faibles hauteurs. La partie nord correspond à une zone protégée des vents dominants et où les végétaux plantés atteignent une hauteur moyenne d'environ 1.50m.

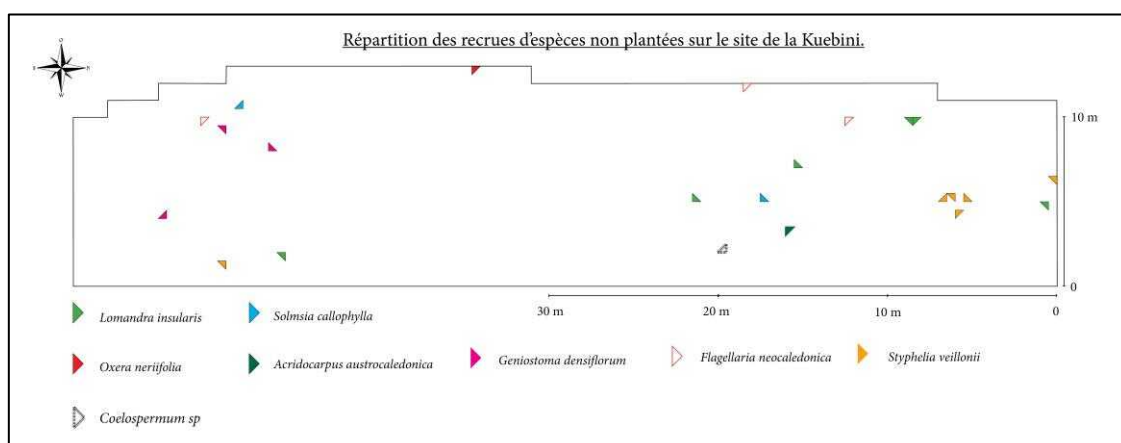


Figure 55 : Graphique illustrant la répartition des recrûs des nouvelles espèces sur le site de la Kuebini (Loslier, 2016).

4.1.3.2.2. Evaluation de la banque de graines du topsoil des zones révegetalisées par plantation

➤ Densité de levées des topsoils

Les levées issues des différents topsoils après 2 ans de suivi, toutes espèces végétales confondues, sont plus importantes pour la plantation A2 avec 271 levées par m² et sont plus faibles pour les plantations A1 et B avec 3 levées par m² (Figure 56). Les densités de levées des plantations A3 et C sont de 43 et 120 par m² respectivement.

En comparant les zones revégétalisées par plantation (Figure 56), la plus forte densité de levées de Cypéracées a été relevée pour les topsoils de A2 avec 268 levées par m² en moyenne alors que les topsoils de B présentent la plus faible densité de levées avec 1 germination par m². Les densités moyennes de germinations de Cypéracées des topsoils de A1, A3 et C varient entre 3 et 43 levées par m². Quant à la densité de levées de Dicotylédones, elle est plus élevée pour la plantation C avec 101 levées par m² et elle est plus faible pour les plantations B et A2 avec respectivement 2 et 4 levées par m² (Figure 56). Aucune germination de Dicotylédones n'a été observée pour les plantations A1 et A3.

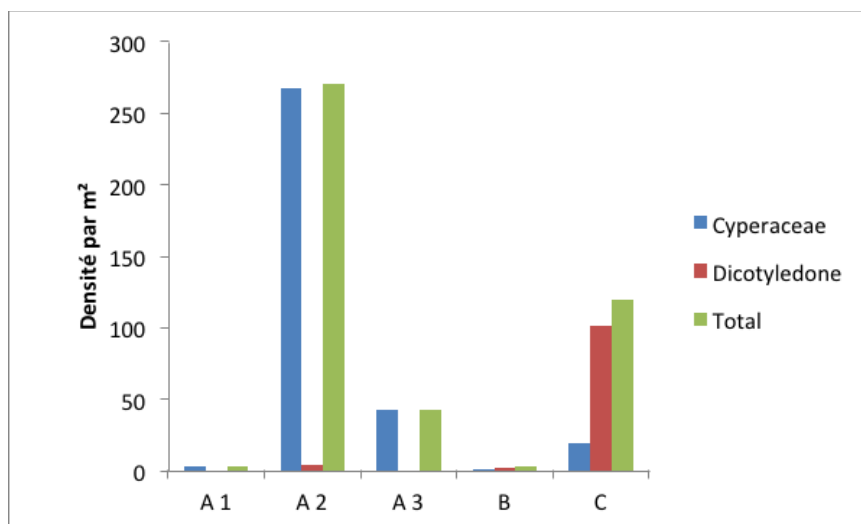


Figure 56 : Densité moyenne au m² de levées de Cypéracées et de Dicotylédones du topsoil en fonction des zones revégétalisées par plantation.

➤ Composition spécifique et densité en Cypéracées des banques de graines

Parmi les espèces de Cyperaceae, seulement deux ont levé au sein des topsoils : *Machaerina deplanchei* présentent uniquement sur la plantation A2 avec 58 levés au m² et *Costularia comosa* relevé sur toutes les plantations avec une proportion plus importante au sein de plantation A2 (210 levées par m², Figure 57). La densité de *C. comosa* est moins importante pour les autres plantations avec dans l'ordre décroissant : 43, 19, 10 et 3 levées au m² pour les plantations A3, C, B et A1 respectivement.

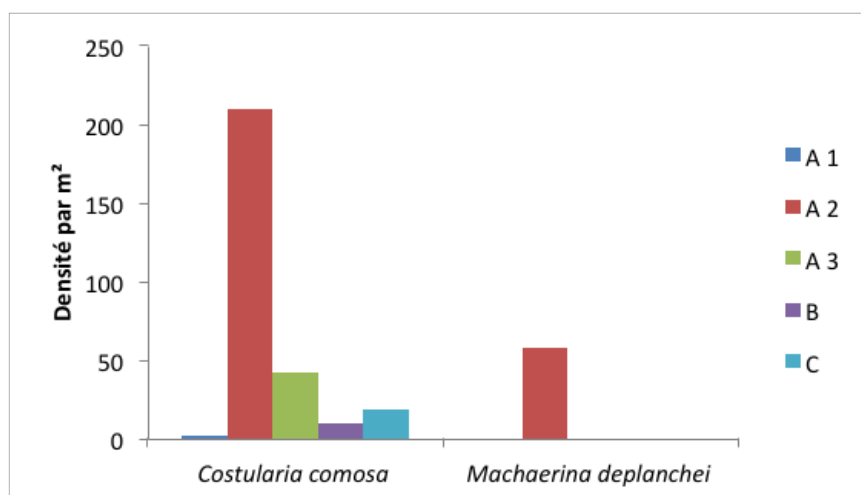


Figure 57 : Diversité spécifique en Cypéracées issue des topsoils en fonction des zones revégétalisées par plantation.

➤ Composition spécifique et densité en Dicotylédones des banques de graines

Concernant les Dicotylédones, quatre espèces ont pu être observées, trois ont été déterminées au niveau du genre et une autre n'a pas pu être identifiée. *Scaevola sp.* est l'espèce la plus représentée avec 20 et 91 levées par m² pour les plantations B et C respectivement. *Acacia spirorbis*, *Hibbertia lucens*, *Hibbertia sp.*, *Styphelia sp.* ainsi que l'espèce non identifiée sont présentes dans les topsoils de la plantation C avec 1, 1, 1, 3 et 4 levées par m² respectivement (Figure 58). Enfin, *Alphitonia neocaledonica* et *Gymnostoma deplancheanum* ont été relevées dans le topsoil de la plantation A2 avec 3 et 1 levée(s) par m² respectivement (Figure 58).

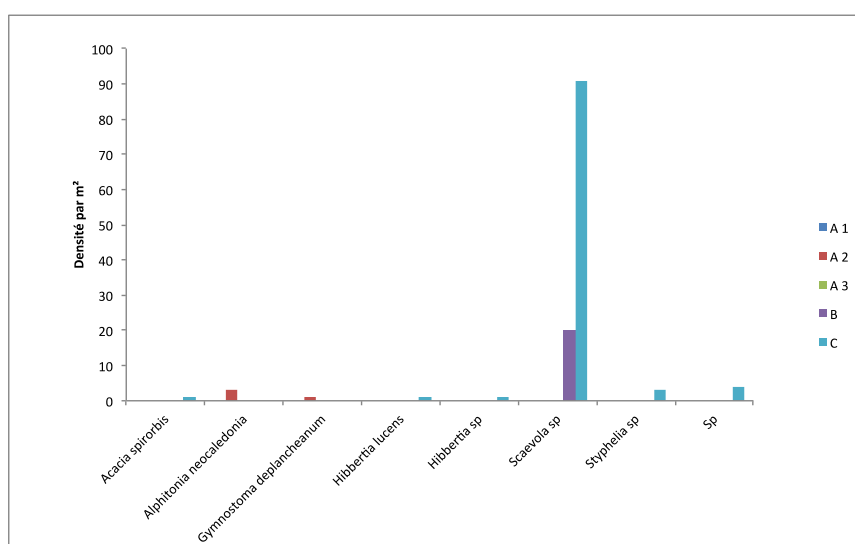


Figure 58 : Diversité spécifique en Dicotylédones des topsoils par zones revégétalisées par plantations.

4.1.3.3. Progrès de rétablissement des zones revégétalisées par plantation

La Figure 59 présente les progrès de rétablissement des plantations A1, A2, A3 et B obtenus selon le système des 5 étoiles en vue d'atteindre un maquis arbustif dense (MD).

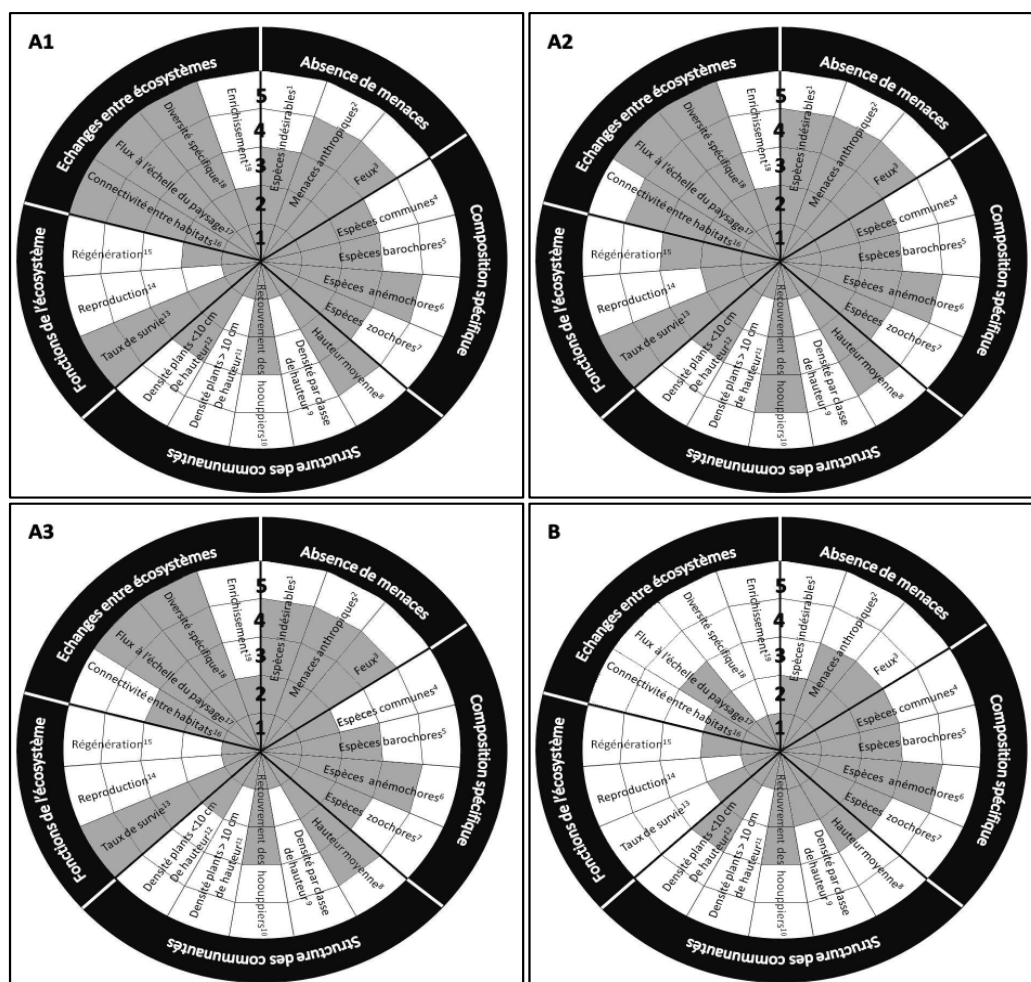


Figure 59 : Progrès de rétablissement vers un maquis arbustif dense (MD) des zones A1, A2, A3 (19 ans après plantation) et de la zone B (14 ans après plantation) selon le système des 5 étoiles de rétablissement (McDonald *et al.*, 2016).¹Absence d'espèces indésirables (animales ou végétales);²Absence de menaces anthropiques et ³Absence de feu. Pour l'attribut : Absence de menaces, si l'indice est proche de 5, c'est qu'il n'y a pas de menaces.⁴Espèces communes, ⁵Espèces barochores, ⁶Espèces anémochores, ⁷Espèces zoochores entre chaque plantation et le MD.⁸Hauteur moyenne de chaque plantation comparée au MD, ⁹Nombre d'individus au m² par classe de taille comparé au MD, ¹⁰Recouvrement des houppiers des plants plantés, ¹¹Densité des plants supérieurs à 10 cm de hauteur au m² et ¹²Densité des plants inférieurs à 10 cm de hauteur au m². ¹³Taux de survie, ¹⁴Capacité de reproduction des individus plantés et ¹⁵Capacité de régénération de la plantation. ¹⁶Connectivités entre habitats, ¹⁷Flux de dispersion à l'échelle du paysage, ¹⁸Diversité spécifique apportée à la plantation et ¹⁹enrichissement de la plantation.

4.1.3.3.1. Description par plantation

❖ Evaluation de la plantation A1 par rapport au MD (Figure 59-A1).

Peu de menaces pèsent sur la plantation A1 avec des indices compris entre 3 et 4. Lors du relevé, des espèces végétales envahissantes ont été notées, mais en faible proportion. De plus, des traces de cerfs ont été observées autour de la plantation, mais aucun impact direct n'a été constaté sur la végétation plantée (broutage des végétaux), ni sur les recrûs (piétinement des plantules).

Par rapport au MD, la composition spécifique est moyenne avec un indice de 3 représentatif des 22% d'espèces communes au MD. Ce sont ainsi 20 espèces qui sont présentes contre 3 plantées (Annexe 1), d'ailleurs toujours représentées dans le cortège au moment du relevé. Les proportions d'espèces zoochores et barochores communes au MD ont également atteint un indice de 3 (24 et 33% respectivement). A noter qu'une seule espèce plantée présentait un caractère zoochore (Annexes 1 & 7) contre 16 relevées. Par ailleurs, on note que les espèces anémochores communes au MD sont un peu plus représentées que les précédentes avec un indice de 4 (47%), du fait en particulier de la présence des 2 espèces plantées présentant ce type de dispersion sur les 9 relevées (Annexes 1 & 5).

Concernant la structure de la végétation, la hauteur moyenne, le recouvrement des houppiers et la densité des individus de taille inférieure à 10 cm ont un indice de 3 à 4 (cas de la hauteur) qui reflète pour ces sous attributs, une évolution moyenne mais favorable vers un MD. La densité des individus au m² par classe de hauteur est très faible avec un indice de 1 qui est à relier à la faible densité des individus de taille supérieure à 10 cm. Ainsi, il est constaté pour cette plantation une prédominance d'individus de petite taille (plantules d'espèces ligneuses) à l'instant du relevé mais à l'inverse, l'installation sur le plus long terme semble plus difficile (faiblesses des individus > 10cm).

Les résultats montrent également que le taux de survie des espèces plantées (93%) est très élevé, caractérisé par un indice de 5 alors que les capacités de reproduction et de régénération de la plantation restent faibles avec un indice de 1 et 2 respectivement.

Enfin, la plantation A1 est très connectée avec la végétation alentour (indice 5) et bénéficie d'importants flux de dispersion (indice 5), ce qui se caractérise par une diversité spécifique apportée également élevée (indice 5). Cependant, ce sous-attribut est à relativiser par rapport à l'enrichissement constaté de la plantation qui est plutôt moyen à faible (indice 2). En effet, si le nombre d'espèces apparues est élevé (24), le nombre d'individus par espèce apparue ne représente que 19% des recrûs présents, de fait majoritairement issus des individus plantés (Annexe 7) et en particulier de l'espèce *Gymnostoma deplancheanum* avec 1960 recrûs sur les 2424 (81%) comptabilisés sur l'ensemble de la plantation. Il est à noter que la végétation alentour de type MPGd est majoritairement constituée de cette espèce et que les recrûs peuvent donc provenir soit des individus plantés soit des individus des milieux environnants. A une moindre échelle le *Grevillea exul subsp. rubiginosa* participe à ce même phénomène (0,5%).

❖ Evaluation de la plantation A2 par rapport au MD (Figure 59-A2).

La plantation A2 est très peu menacée par les espèces invasives, les menaces anthropiques et le feu (indice 4 pour chaque sous-attribut), même s'il est à noter la présence de quelques individus (3) de *Dodonaea viscosa* (espèce native mais non présente naturellement dans les milieux environnants) qui ne représentent donc à ce stade qu'une très faible menace vis à vis des autres espèces.

Concernant la composition spécifique, on observe une évolution moyenne vers le MD, car l'indice de 3 est attribué pour les espèces communes (29%). Tout comme pour la plantation A1, ce sont ici 27 espèces qui sont présentes contre 4 plantées (Annexe 1), là encore toujours représentées dans le cortège au moment du relevé. La proportion d'espèces zoochores et barochores est également à un indice de 3 (34 et 33% respectivement). La seule espèce zoochore plantée identique à celle de la plantation A1 a été relevée parmi les 23 espèces présentes. De nouveau, les espèces anémochores communes au MD sont plus représentées que les précédentes avec un indice de 4 (68%), soit 13 espèces alors que la plantation A2, ne compte qu'une seule espèce de plus que la plantation A1 (soit 3 au lieu de 2) présentant ce type de dispersion.

Nos résultats montrent que pour la plantation A2, la hauteur moyenne et le recouvrement des houppiers des individus plantés sont importants (indice 4) par rapport au MD. La densité des individus inférieurs à 10 cm de hauteur présente une évolution moyenne vers un MD (indice 3) alors que la densité des plantes au m² par classe de hauteur est très faible (indice 1) et est liée à la faible densité des individus supérieurs à 10 cm de hauteur. Aussi, tout comme pour la plantation A1, le nombre de recrûs est élevé mais leur persistance reste faible malgré une fermeture du milieu plus importante.

Le taux de survie des espèces plantées est élevé car l'indice est de 5, la capacité de régénération totale est moyenne (indice 3) alors que le taux de reproduction est plus faible (indice 2).

La connectivité entre la plantation et la végétation alentour (indice 5) et le flux de dispersion à l'échelle du paysage (indice 5) sont importants d'où l'apport conséquent de diversité spécifique à cette plantation (indice 5). Quant à l'enrichissement de la plantation, elle est moyenne (indice 2) du fait de la proportion de recrûs issus strictement des espèces alentours. Cependant, là encore la proportion de recrûs pouvant provenir d'individus plantés et/ou des milieux alentours est importante pour *G. deplancheanum* (57%), *Grevillea exul subsp. rubiginosa* (8%) et *Myodocarpus fraxinifolius* (19%) pour un total de 84% (Annexe 7). A noter l'apparition de l'espèce *D. viscosa* non issue des individus plantés mais qui semble provenir d'un semencier planté à proximité, sur le rond-point de l'« ancienne pépinière » situé à 10m (Annexe 8).

❖ Evaluation de la plantation A3 par rapport au MD (Figure 59-A3).

La plantation A3 est également très peu menacée par les espèces invasives, les menaces anthropiques et le feu (indice 4 pour chaque sous-attribut).

La composition spécifique comparée au MD est faible avec un indice de 2 avec 5% d'espèces communes au MD représenté par 14 espèces dont 4 proviennent des espèces plantées toujours vivantes. La proportion d'espèces zoochores et barochores est également

moyenne avec un indice de 3 (16 et 33% respectivement) dont 2 espèces zoochores proviennent de la plantation sur les 11 relevées. Les espèces anémochores communes sont de nouveau plus représentées que les précédentes avec un indice de 4 (47%) incluant 2 espèces plantées toujours présentes sur les 9 relevées.

Concernant la structure de la végétation, la hauteur moyenne et le recouvrement des houppiers ont un indice de 3 à 4, soit une évolution moyenne vers un MD pour ces sous attributs. La densité des plantes au m² par classe de hauteur est très faible (indice 1). En effet, on note une faible densité des individus de taille inférieure ou supérieure à 10 cm pour qui l'indice attribué est de 1 et 2 respectivement. Autrement dit, le nombre de recrûs et leur survie y sont faibles.

Pour ce qui est de la fonctionnalité de la plantation, on observe un taux de survie des individus plantés élevé (indice 5), une capacité de régénération totale moyenne (indice 3) et un taux de reproduction très faible (indice de 1), laissant présager un développement peu favorable des individus plantés.

Bien que la plantation A3 soit moins bien connectée au milieu environnant (indice 4), les flux de dispersion à l'échelle du paysage et la diversité spécifique apportée à la plantation sont très importants (Indice 5). Quant à l'enrichissement de la plantation par l'arrivée de recrûs issus des milieux alentours, il est faible avec un indice de 2. De nouveau, la proportion de recrûs pouvant provenir d'individus plantés et/ou des milieux alentours est importante pour *G. deplancheanum* (44%), *Grevillea exul subsp. rubiginosa* (23%) et *Syzygiumn goyense* (10%), pour un total de 77% (Annexe 7).

❖ Evaluation de la plantation B par rapport au MD (Figure 59-B).

La plantation B est exposée à diverses menaces avec un indice de 2 pour les espèces indésirables dû à la présence d'espèces invasives (en faible quantité) et de l'espèce native *Dodonaea viscosa* qui a été plantée alors qu'elle n'a pas été repérée lors des relevés menés dans les végétations alentours (Ititiaty, 2019). De plus, en 2017 un feu de faible ampleur a été observé à proximité de la plantation (à environ 300 mètres) même s'il a été maîtrisé assez rapidement. La plantation B est enfin située en bord d'une piste assez fréquentée par les employés de l'entreprise minière et les personnes des tribus alentours.

Par rapport au MD, la composition spécifique est moyenne avec un indice de 3 représentatif des 17% d'espèces communes au MD et ceci malgré le fait que 34 espèces y aient été plantées. Sur ces 34 espèces plantées, seules 25 ont survécu (Annexe 1) et 11 d'entre-elles sont présentes en MD, les autres ayant été relevées à raison de 7 espèces au sein des formation(s) suivante(s) : MAO, MPGd, et MP. Enfin 7 espèces n'ont pas été relevées lors des inventaires des milieux environnants : *Cupaniopsis sp.*, *Dodonaea viscosa*, *Hibbertia lucens*, *Joinvillea plicata subsp. plicata*, *Piliocalyx laurifolius*, *Syzygium macranthum*, *Xanthostemon aurantiacus*. Les proportions d'espèces zoochores et barochores communes au MD ont également atteint un indice de 3 (28 et 33% respectivement). Cependant, il est important de noter que 15 espèces zoochores sont la résultante de leur implantation par plantation sur les 19 relevées (Annexe 1). Il est également surprenant de constater la présence de 2 espèces barochores, *Geniostoma densiflorum* et *Solmsia calophylla*, sur cette zone alors qu'aucune ne proviendrait d'espèces plantées. Au regard de la distance des semenciers les plus proches (Annexe 8), leur caractère barochore évalué à partir de leur fruit reste à confirmer

car elles seraient probablement dispersées par les animaux. Par ailleurs, on note que les espèces anémochores communes au MD sont largement plus représentées que les précédentes avec un indice de 4 (57%). Cependant, 10 espèces apportées par plantation participent au chiffre de 11 espèces relevées.

Concernant la structure de la végétation, la hauteur moyenne, le recouvrement des houppiers et la densité des individus inférieurs à 10 cm de hauteur sont moyens (indice 3 pour chaque sous-attribut). La densité des plantes au m² par classe de hauteur est faible car l'indice est de 2 et est liée à la faible densité des individus supérieurs à 10 cm de hauteur. Le nombre de recrûs y est donc plutôt élevé mais leur persistance reste faible.

Les résultats montrent enfin que le taux de survie, le taux de reproduction et la capacité de régénération des espèces plantées sont faibles (indice 1 à 2).

Concernant les échanges avec l'extérieur, on observe que la connexion de la plantation B au milieu naturel est moyenne (indice 3) d'où un flux de dispersion à l'échelle du paysage lui-même moyen (indice 3). Ceci a pour effet direct de conduire à un faible apport de diversité spécifique et un faible enrichissement de la plantation (indice 1 pour chaque sous-attribut). Aussi l'Annexe 8 qui présente les distances minimales entre la plantation et le premier semencier potentiel pour les espèces l'ayant colonisé au nombre de 7 et issues du milieu naturel (non plantées) montre la difficulté rencontrée par ces dernières pour s'y installer du fait de longues distances. A noter enfin que la proportion d'espèces dont les recrûs peuvent provenir d'individus plantés et/ou des milieux alentours n'est que de 51% et concerne 13 espèces avec les plus fortes proportions pour *Alphitonia neocaledonica* et *Scaevola balansae* de l'ordre de 20% chacune.

4.1.3.3.2. Analyse comparative des plantations de l'« ancienne pépinière », A1, A2 et A3 (Figures 59-A1, 59-A2, 59-A3)

Les résultats montrent que dans l'ensemble, les plantations de l'« ancienne pépinière » sont peu exposées aux menaces. Cependant, la présence d'espèces indésirables est un peu plus marquée (indice de 3) pour la zone revégétalisée A1 par rapport aux deux autres (indice de 4).

Le progrès de rétablissement de la composition spécifique est plus important en A1 et A2 (indice 3) qu'en A3 (indice 2) (voir la description dans les paragraphes précédents). A noter cependant que la plantation A2 présente un plus grand nombre d'espèces communes au MD laissant présager une meilleure recolonisation. Ceci est renforcé par un pourcentage d'espèces zoochores important (34%) ainsi qu'un nombre d'espèces anémochores communes au MD quant à lui remarquablement élevé avec 68%.

Par contre, la structure des communautés végétales varie d'une plantation à une autre. En effet, la hauteur moyenne et le recouvrement des houppiers des individus plantés sont plus importants dans la plantation A2 que dans la A1 et la A3, élément à relier probablement aux conditions édaphiques. De plus, la densité des individus inférieurs à 10 cm de hauteur est plus importante au sein des zones revégétalisées A1 et A2 (indice 3) qu'à l'intérieur de la A3 (indice 2). Quelle que soit la plantation, la densité au m² des plantes par classe de taille est faible et s'explique essentiellement par la faible densité des individus de taille supérieure à 10 cm qui est également très faible (indice 1). Ainsi, s'il semble que des plantules de diversité spécifique

moyenne arrivent à recoloniser ces plantations, avec une plus grande difficulté sur la plantation A3, il n'en reste pas moins que leur persistance sur le long terme reste plus complexe.

Lorsque l'on s'intéresse aux fonctions de l'écosystème planté, le taux de survie présente le même indice pour les trois plantations (5) avec des valeurs supérieures à 90%. Le taux de reproduction est un peu plus grand dans la plantation A2 (indice 2) révélant certainement une ressource nutritive plus importante favorable à la floraison et à la fructification. On remarque également que la régénération sur les parcelles revégétalisées A1 et A2 (indice 2 et 3 respectivement) est plus importante que celle de la A3 (indice 1), à relier tant au taux de reproduction plus faible pour A3 qu'à l'état induré du sol moins favorable à l'implantation de plantules pour A1 par rapport à A2.

La cartographie de la zone (Figures 50-A1, 59-A1) montre que les plantations A1 et A2 présentent la plus forte connexion avec le milieu environnant (indice 5), suivi de la A3 (indice 4). En effet, cette dernière est plus éloignée de la végétation naturelle que les deux premières. Le flux de dispersion à l'échelle du paysage et la diversité spécifique apportée aux zones revégétalisées sont très importantes (indice 5 pour les 3) ; cependant, l'enrichissement des plantations l'est moins (indice 2 pour les 3). Cet indice faible est à relativiser au regard des proportions de recrûs pouvant provenir d'individus plantés et/ou des milieux alentours en particulier pour A2 (84%). Ceci semble être la résultante à la fois de la proximité de la plantation A2 avec les végétations environnantes et des conditions d'installation plus favorables (conditions de sol : latérite rouge meuble ; taux de recouvrement/ombrage ; ...). On peut en effet constater que près de 1245 recrûs issus strictement d'espèces du milieu environnant (représentant 34 espèces différentes) ont été dénombrés sur la plantation A2 soit une densité de 1,13 plantules au m² contre des densités de 0,9 et 0,29 respectivement pour les plantations A1 et A3 avec 24 et 18 espèces nouvelles.

4.1.3.4. Analyse entre les plantations de l'« ancienne pépinière » : A1, A2 et A3 et celle de la Kuebini : B (Figure 59)

Concernant les menaces pesant sur ces écosystèmes revégétalisés, les plantations A1, A2 et A3 sont globalement épargnées (indice 4, à l'exception des espèces indésirables dont la présence est plus observée sur la plantation A1 avec un indice de 3), alors que la plantation B est plus exposée aux menaces (indices de 2 à 3).

Les résultats montrent que la composition spécifique commune avec le MD évolue de la même façon pour les plantations A1 et A2 de l'« ancienne pépinière » laissant présager une trajectoire positive vers l'écosystème cible. Pour celle de la Kuebini, même si l'indice est de 3, le fait que le nombre d'espèces initialement utilisées sur la plantation B était de 34 contre 3 ou 4 sur les plantations A1, A2 et A3, conduit à relativiser son évolution. En effet, au moment du relevé sur les 16 espèces communes au MD (contre 14, 20 et 27 sur les plantations de l'« ancienne pépinière »), 11 proviennent de la plantation, 9 sur les 11 s'y sont régénérées par recrûs et 2 sur les 11 seulement présentent des individus installés de manière plus pérenne (taille supérieure à 10 cm). Si l'on considère le type de dispersion des espèces communes au MD, la proportion d'espèces barochores est équivalente quelle que soit la plantation considérée. Concernant les espèces anémochores et zoochores, leur proportion est plus importante sur A2 et B. Cependant dans le cas de la plantation A2, leur origine est très

majoritairement issue du milieu environnant alors que dans le cas de la plantation B, aucune des 2 espèces barochores, 10 des 11 espèces anémochores, et 15 des 19 espèces zoochores proviennent des espèces plantées, ce qui est à relier avec les problèmes de connectivités (cf. plus bas).

En ce qui concerne la structure des communautés, la hauteur de la végétation est plus importante pour les 3 plantations de l'« ancienne pépinière » (indice 4) par rapport à celle de la Kuebini (indice 3). Le recouvrement des houppiers est moyen (indice 3) aussi bien pour la plantation B que pour les plantations A1 et A3 alors qu'il est plus important sur A2 (indice 4). Globalement donc, les conditions de développement semblent plus favorables sur la plantation A2. On note que la densité des plantes au mètre carré par classe de hauteur est un plus importante pour la plantation B (indice 2) que pour celles de l'« ancienne pépinière » (indice 1), bien que la densité des individus de taille supérieure à 10 cm y soit également très faible elle reste la plus importante avec 2,6% (indice 1 pour les quatre plantations). De plus, dans la plantation B, la densité des plantes de taille inférieure à 10 cm est moyenne (indice 3) comme pour celle de la A1 et la A2, l'installation des plantules y semble donc plutôt favorable en particulier par rapport à la plantation A3, bien que moins favorable que la plantation A2 (28% pour B vs 37% pour A2).

Par rapport aux plantations de l'« ancienne pépinière », le taux de survie des espèces plantées de 56% de la plantation B est faible (indice 2 vs 5 pour les autres). De plus, la capacité de reproduction y est l'une des plus faibles avec 13% proche de celles des plantations A1 et A3 et environ trois fois plus faible que celle de la plantation A2. Malgré tout, la capacité de régénération y est aussi bonne que pour la plantation A1, plus faible que la A2 et très largement plus grande que celle de la A3. Ainsi, pour cette plantation B, on constate que les plantules sont très majoritairement issues des espèces plantées avec près de 3730 individus contre 29 d'espèces apparues.

Ceci est en partie expliqué par les résultats montrant que la plantation B est beaucoup moins connectée au milieu naturel (indice 3) que les plantations de l'« ancienne pépinière » (indice 4 à 5) d'où un apport en diversité spécifique (indice 1 versus 5) et un enrichissement de la plantation (indice 1 versus 2) également plus faibles. Le flux de dispersion à l'échelle du paysage est également moyen pour la plantation B (indice 3) comparé aux trois autres plantations (indice 5). Ainsi, l'essentiel de la recolonisation de cette plantation se fait à partir des individus plantés ayant survécu.

Dans l'ensemble, nos résultats montrent que les plantations A1 et A2 de l'« ancienne pépinière » sont sur une assez bonne trajectoire pour atteindre le maquis arbustif dense avec des conditions beaucoup plus favorables pour la A2 en particulier du fait des conditions de sols indurées de A1, alors que celles des plantations A3 et B sont plutôt moyennes à relier avec différents éléments allant du type de sol en passant par la connectivité.

Si l'on devait classer les plantations dans l'ordre croissant en fonction de leur trajectoire de rétablissement, vers un maquis dense, on obtiendrait : A2>A1>A3>B.

4.1.4. ELEMENTS DE DISCUSSION

4.1.4.1. Dynamique des milieux naturels

Les inventaires floristiques sur le plateau de Goro tendent à montrer une succession végétale entre les formations du maquis arbustif dense, le maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* et le maquis préforestier. Ces trois formations ne possèdent pas moins de 65 espèces végétales en commun et le nombre d'espèces potentiellement zoochores augmente le long de la succession. Parmi les quatre formations étudiées, le maquis arbustif ouvert est le moins homogène et le moins connecté aux autres formations. Les conditions environnementales de ce milieu en font un écosystème qui évolue très lentement et semble pour le cas du plateau de Goro être un écosystème mature. Cependant, L'Huillier et al. (2010) attestent que cette formation si elle n'est pas soumise à des incendies, évolue naturellement vers des formations forestières et n'est donc pas figée à un stade arbustif ouvert. Or, à partir des relevés de terrain et des résultats obtenus dans le cadre de ce travail, il semble que cette formation dans la zone considérée ne soit pas en mesure d'évoluer si aucune action n'est entreprise pour faciliter l'établissement d'espèces forestières (taux de matière organique plus important, ombrage plus fort, bilan hydrique positif...). Malgré tout, il est à considérer le fait que nos relevés ont été réalisés sur une zone bien délimitée et qu'il n'est pas envisageable que le « chaînon manquant » puisse être trouvé par ailleurs et puisse participer sur un pas de temps très long à enclencher la suite de la succession. L'étude de McCoy et al. (1999) menée sur une zone plus étendue montre en effet qu'en ayant travaillé sur 88 sites dont 35 en maquis ouverts, 33 en maquis paraforestiers et 30 en milieux forestiers, que la succession est visible dans sa totalité. L'hypothèse d'une intervention pour aider la succession écologique à se réenclencher sur cette formation est à mettre en lien avec les listes d'espèces candidates à la restauration qui ne sauraient être utiles que dans la mesure où la connaissance du milieu à restaurer et de son éventuelle évolution sont appréciées.

Pour ce qui est de la formation de maquis préforestier choisi dans notre étude, c'est un groupement particulier du secteur nord ouest du plateau de Goro. Il s'apparente au maquis préforestier à *Metrosideros nitida* décrit par Jaffré et al. (2003). Nous avons en effet noté lors de nos inventaires qu'elle se différencie du maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* par la présence de grands arbres pouvant atteindre 10 à 12 mètres de hauteur et d'une circonférence importante notamment pour l'espèce *Planchonella* sp. De plus, nous avons comptabilisé 87 espèces communes à ces deux formations végétales (cf. Encadré 5) dont certaines espèces forestières telles que *Cryptocarya guillauminii* et *Frecinetia* spp.

Encadré 5 : Les successions végétales de la zone étudiée en chiffres

- 174 espèces végétales répertoriées dans les milieux naturels dont 37 espèces « candidates » à la restauration écologique (communes aux quatre formations végétales retenues et présentant une forte plasticité phénotypique leur permettant d'être adaptées tant aux milieux ouverts qu'aux environnements forestiers).
- le maquis arbustif ouvert (MAO), le maquis arbustif dense (MD), le maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* (MPGd) et le maquis préforestier (MP) comptent respectivement 75, 96, 111 et 124 espèces dont 65, 88, 101 et 114 espèces ligneuses respectivement. Cette succession observée se caractérise par une augmentation de la diversité spécifique et de la densité, une fermeture progressive du milieu, par une augmentation de la proportion d'espèces zoochores et enfin par une augmentation de la taille globale de la végétation.

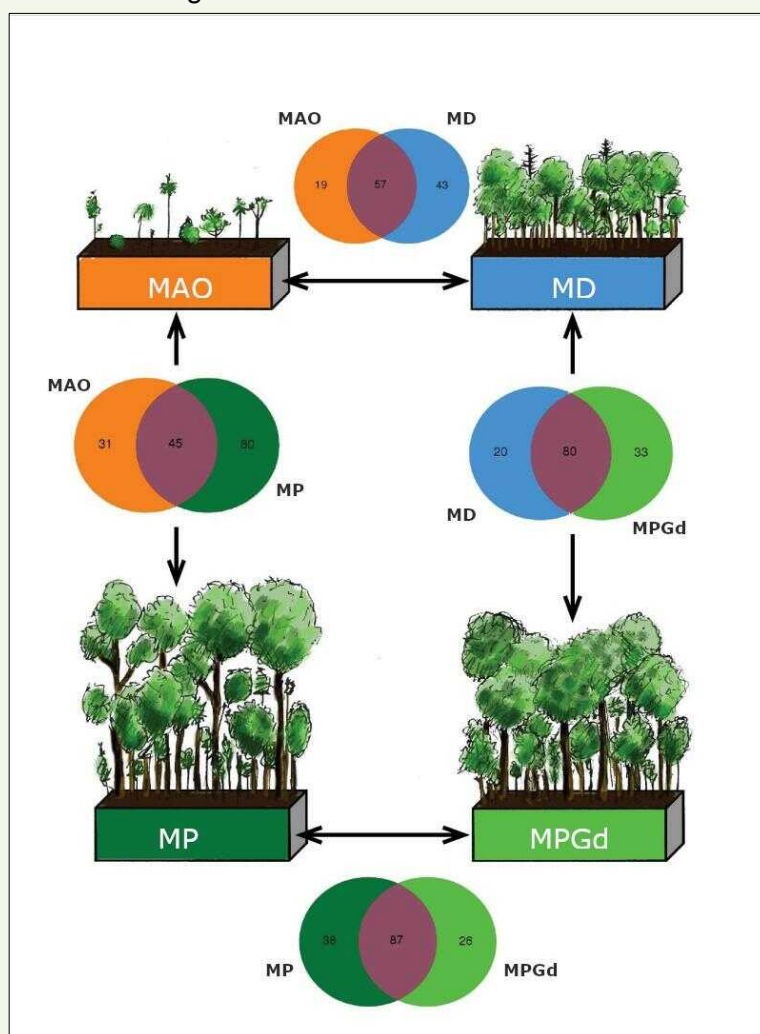


Schéma avec les diagrammes de Venn appliqués entre chaque formation végétale (Source : Pierre Loslier). MAO : maquis arbustif ouvert, MD : maquis arbustif dense, MPGd : maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum*, MP : maquis préforestier.

Bien que le maquis préforestier présente des espèces strictement forestières, au moins un tiers de sa composition spécifique est commune au maquis arbustif ouvert (Encadré 5). Ces espèces communes présentent une forte plasticité phénotypique, car elles peuvent s'adapter aussi bien en milieux ouverts que forestiers et sont donc à prioriser dans les travaux de restauration. Parmi ces espèces, on retrouve nos 37 espèces dites « candidates ». Selon Jaffré et al. (2003), la diversité et la dynamique des strates moyennes et inférieures du maquis préforestier évoquent une évolution possible vers un groupement plus forestier.

Il a été montré que sur les 37 espèces dites « candidates » à la restauration, 19%, 5.5%, 5.5% et 70% sont respectivement anémochores, anémochores ou barochores, barochores et zoochores. Il est recommandé de prioriser l'étude germinative des 26 espèces zoochores dans le but de maîtriser leur production et ainsi permettre d'augmenter le nombre d'espèces zoochores au sein des futurs programmes de restauration. A noter que 12 d'entre-elles ont fait l'objet d'un suivi phénologique et onze ont été récoltées (fruits/graines) pour faire l'objet d'une caractérisation auxquelles s'est ajoutée une espèce collectée de manière opportuniste. Il a été montré que la plupart présentait des fruits matures durant la saison chaude et humide (décembre à mars). Sur les 11 espèces ayant fait l'objet d'une étude germinative, 5 (dont 3 zoochores) ont été déterminées comme ayant des graines non dormantes et sont aujourd'hui maîtrisées, les autres présentant diverses dormances (Ittiaty et al., 2019).

4.1.4.2. Dynamique des zones revégétalisées

4.1.4.2.1. En lien avec la banque de graines

Le choix des sites au début du projet a été fait de façon à sélectionner des zones où aucun topsoil n'avait été apporté et ceci afin d'éviter l'apport de nouveaux individus qui auraient été issus de ce dernier. Ainsi, l'étude de la banque de graines que nous avons menée au niveau des sols des différentes parcelles plantées permet de déterminer les graines présentes dans cette banque qui sont issues soit des individus plantés soit de la recolonisation par les milieux naturels alentours.

Le premier élément qui a été observé est la prédominance des Cypéracées sur la plantation A2 de la zone dite de l'« ancienne pépinière ». Les études ont montré que les latérites rouges constituent un substrat d'accueil assez favorable à l'installation et au développement d'un couvert végétal, par plantation, semis et même par recolonisation spontanée depuis les zones naturelles alentours, car leurs caractéristiques physico-chimiques sont assez proches de celles des topsoils (Bordez et al., 2018). Cet état de fait est confirmé ici à la fois en comparant les parcelles A1, A2 et A3 entre-elles, même si la parcelle A3 (latérite jaune) semble permettre l'intégration de quelques Cypéracées exclusivement de l'espèce *Costularia comosa*. Il est à noter que cette espèce, qui présente un mode de dispersion majoritairement anémochore, se retrouve sur l'ensemble des parcelles étudiées et provient très certainement des végétations alentours. Quant à *Machaerina deplanchei*, cette dernière n'est pas présente dans les milieux naturels alentours et son implantation serait due

essentiellement à sa dispersion à partir de bosquets de cette espèce plantés à proximité de la plantation A2.

Le second élément notable concerne la diversité en dicotylédones. Ainsi, aucune levée n'a été observée sur les topsoils issus de A1 et A3, et une faible densité a été relevée pour ceux des plantations A2 et B. Pour ces deux dernières, deux cas de figures se présentent. Ainsi pour *Alphitonia neocaledonica* ou *Gymnostoma deplacheanum*, leur origine peut être double, soit à partir des plants plantés, soit à partir du milieu naturels alentours, en particulier pour *G. deplacheanum* dont la dispersion est majoritairement anémochore. Au contraire les graines d'*A. neocaledonica* proviendraient plus des pieds plantés du fait de sa dispersion barochore. Pour ce qui est des levées de *Scaevola sp.*, les graines sur ces plantations ne peuvent provenir que d'une recolonisation naturelle, cette espèce étant fortement présente dans le milieu alentour et pouvant être dispersée par les oiseaux. A noter à ce titre que cette dernière présente sur les relevés faits sur cette plantation un nombre important de recrûs (Annexe 7). Il est à remarquer le même phénomène sur la plantation C où aucun individu de *Scaevola* n'avait été planté mais qui présente une richesse importante en nombre de graines contenues dans la banque du sol (76% des levées totales dont 90% des levées de Dicotylédones). Il est intéressant de rappeler que le sol de la plantation C est une latérite jaune, peu favorable à l'implantation naturelle. Cependant, il semble que le gaïac joue un rôle de « plante nurse » ici et favorise par un enrichissement du sol, l'implantation observée sous les individus de cette espèce. C'est d'ailleurs dans le topsoil de cette plantation que la plus grande diversité de ligneux est retrouvée dans la banque de graines (6 espèces de ligneux pour 1 espèce de Cypéracée). Enfin, la plantation B qui elle est éloignée des végétations naturelles possède une richesse importante de *Scaevola* tant en nombre de graines contenues dans la banque du sol (67% des levées représentant 100% des levées de Dicotylédones) qu'en nombre de recrûs installés (774 sur 3759 soit près de 21% ; Annexe 7). L'hypothèse la plus probable est un apport majoritairement issu des individus de *Scaevola* plantés.

En résumé, la banque de graines des sols étudiée ici permet d'évaluer la capacité de régénération des espèces, qu'elles soient issues des individus plantés ou des individus présents dans les milieux naturels alentours, révélant le dynamisme de recolonisation et pouvant de fait être un bon indicateur biologique.

4.1.4.2.2. Progrès de rétablissement des zones revégétalisées par plantation

❖ **Evaluation entre les attributs des standards internationaux de la restauration écologique et ceux de cette étude**

La première étape a consisté comme recommandé dans les standards internationaux de la restauration écologique (McDonald et al., 2016) à choisir le milieu de référence. Le choix du maquis arbustif dense a été fait de par sa structure, sa diversité et sa composition spécifique qui ont été évaluées par Ititiaty (2019) et du fait de son positionnement dans la succession écologique telle qu'elle est aujourd'hui connue, la situant sur une trajectoire favorable à un

retour vers le milieu forestier. Cependant, plusieurs éléments tels que la faune et les conditions abiotiques (substrats, hydrologie, flux d'énergie, cycle des nutriments) du maquis arbustif dense sont peu renseignés dans notre étude qui se base essentiellement sur des données floristiques.

Selon les standards internationaux de la restauration écologique (McDonald et al., 2016), l'écosystème de référence doit également inclure la description des processus de succession ou des stades de développement caractéristiques du déclin ou du rétablissement de l'écosystème après perturbation. Cependant, dans notre étude, le maquis dense n'a pas réellement été évalué après un bouleversement de cet écosystème. Malgré tout, les travaux de McCoy et al. (1999) ont montré que les maquis observés actuellement sont issus de la destruction du stade forestier antérieur par le feu. Suite à cette destruction, la végétation se développe en maquis arbustif ouvert, puis en maquis arbustif (semi ouvert à dense) et enfin en maquis paraforestier avant d'atteindre un stade forestier (Ititiaty, 2019 ; Jaffré et al., 2003; McCoy et al., 1999).

Concernant les zones restaurées étudiées, il est important de rappeler que le projet de révégétaliser ces zones a été initié et réalisé par Vale NC et que ces plantations n'ont pas été conçues dans l'optique d'être étudiées par la suite même si l'évolution des connaissances dans le domaine a conduit ces derniers à intégrer plus d'espèces pionnières dans la plantation de la Kuebini avec une vision de restauration potentielle plus grande. Ainsi, peu de données peuvent être analysées par des statistiques au vu de l'hétérogénéité des parcelles (superficie, type de sol, densité de plantation, composition spécifique etc...). La méthodologie que nous avons employée pour les relevés a déjà été utilisée en Nouvelle-Calédonie (Amir et al., 2018) et elle est suffisamment robuste pour pouvoir tirer des conclusions fiables concernant l'évolution des plantations vers l'écosystème de référence.

Dans cette étude, tous les attributs proposés par les standards de la restauration écologique (McDonald et al., 2016) sont repris : l'absence de menaces, la composition spécifique, la structure de la végétation, les fonctions de l'écosystème et les échanges avec l'extérieur. Tout comme pour le milieu de référence, les données existantes sur les conditions physiques, sont peu ou pas encore disponibles, donc non exploitées dans le cadre de ce travail de thèse.

Par ailleurs, notre étude est uniquement orientée sur la flore, alors que les standards de la restauration écologique (McDonald et al., 2016) prennent également en compte les animaux et les microorganismes. De ce fait, nous avons réduit et adapté les sous-attributs aux données floristiques et écologiques du monde végétal tout en y intégrant l'élément de dispersion qui lui fait appel au monde animal (zoochorie). Malgré tout, cette méthode reste la plus pragmatique pour avoir des résultats interprétables rapidement même s'il convient d'envisager dans les années à venir d'y intégrer les autres éléments de connaissances qui pourront être acquis.

Il nous apparaît également *a posteriori* qu'afin de mieux évaluer les échanges entre écosystèmes, il conviendrait d'évaluer un sous-attribut nommé « barrières écologiques à la dispersion » (mur de pierre, lac de grande étendue, direction des vents dominants...) lorsqu'elles sont présentes, car elles permettraient de mieux appréhender l'accessibilité des

écosystèmes restaurés par rapport au milieu alentour. Ce sous-attribut serait complémentaire à celui de la connectivité entre habitats et aux flux de dispersion à l'échelle du paysage.

Nous avons noté par ailleurs que, quelle que soit la plantation, le taux de reproduction apparaît faible. Cependant, ce résultat est à relativiser car il résulte d'un seul relevé phénologique au cours d'une année. Concernant ce sous-attribut, il faudrait réajuster notre méthodologie et faire un suivi phénologique une fois par mois pendant au moins un an. Il aurait également fallu avoir l'âge de première fructification par espèce plantée, mais ces données ne sont pas acquises à ce stade. Dans les prochains projets de restauration, il faudrait mettre en place une méthodologie adéquate pour obtenir ces résultats.

❖ **Analyse des indices entre les plantations de l'« ancienne pépinière » (A1, A2 et A3)**

Cette analyse se justifie du fait que ces trois plantations ont été effectuées en même temps et que leurs caractéristiques sont proches concernant leur implantation géographique globale, les traitements appliqués, leurs densités de plantation, la composition en espèces plantées quasi identique à une espèce près (3 espèces communes sur 4 plantées au maximum). Elles diffèrent par contre de par le substrat qui les compose, le travail du sol et sa résultante meuble, leur exposition au vent, leurs surfaces et leur proximité aux végétations environnantes.

Les résultats montrent que la plantation A1 est un peu plus exposée aux menaces que les deux autres plantations (A2 et A3), ce qui pourrait s'expliquer par le fait que la parcelle revégétalisée A1 est située à l'entrée de la zone dite de « l'ancienne pépinière » proche de la piste la plus fréquentée de la zone et donc potentiellement plus exposée aux espèces invasives animales ou végétales.

Si l'on considère l'évolution des espèces plantées et leur capacité de régénération, on observe en premier lieu que la hauteur moyenne et le recouvrement des houppiers des individus plantés sont plus importants dans la plantation A2 que pour les deux autres et ce alors qu'il s'agit des mêmes espèces. En effet, toutes les espèces plantées et la très grande majorité (entre 92 et 96%) des individus plantés ont survécu. Les différences observées peuvent être dues au type de sol sur lequel ils ont été implantés. La plantation A2 a en effet été réalisée sur de la latérite rouge meuble alors que la A1 a été mise en place sur une zone de cuirasse dont les blocs peuvent empêcher le développement racinaire et ainsi limiter la croissance des plantes. Quant à la plantation A3, elle a été installée sur de la latérite jaune meuble, substrat à texture argilo-limoneuse dont la teneur en magnésium, en silice et en nickel est plus importante qu'au sein de la latérite rouge (L'Huillier et al., 2010). Des travaux récents issus d'une analyse des échecs et réussites de la restauration écologique en Nouvelle-Calédonie ont ainsi montré l'importance du travail du sol et du type de substrat utilisé (Amir et al., 2018 ; Fogliani et al., 2018) ici confirmé par nos données. Ainsi, « le travail du sol de la zone vouée à être revégétalisée est essentiel en particulier dans les cas où ce dernier est fortement induré, tendance naturelle qu'ont les sols ultramafiques au cours du temps lorsque qu'ils sont laissés dénudés. Le décompactage améliore le drainage et la stabilité en créant des conditions plus favorables à l'installation ou à la reprise des jeunes plants et à leur enracinement profond ». Par ailleurs, toujours selon Fogliani et al. (2018), « la comparaison

de quelques modalités utilisant des substrats différents, notamment saprolites et latérites, montre que les latérites donnent de meilleurs résultats en général et plus encore pour la latérite rouge ». De plus, la plantation A3 se trouve dans un milieu un peu plus ouvert et est exposée aux vents ce qui contribue à assécher son sol contrairement aux deux autres parcelles. Fogliani et al. (2018) ont montré qu'une « comparaison de parcelles soumises aux vents avec des parcelles protégées de cette influence démontre clairement que les terrains exposés aux vents sont moins productifs que les autres, en raison notamment de l'effet desséchant des vents ». Ces facteurs peuvent être à l'origine du développement plus lent des plantes de la zone A3. Cet élément va dans le sens des résultats obtenus par Amir et al. (2018) et Fogliani et al. (2018) sur des zones plus ou moins exposées aux vents dominants. On note également que la capacité de reproduction et de régénération des individus plantés sont toujours meilleures pour la plantation A2 (indice 2 et 3 respectivement) que pour les plantations A1 et A3. Il est bien connu qu'il existe une relation étroite entre la productivité d'une espèce végétale et ses capacités de floraison et de fructification (Larcher, 2003 ; Mazliak, 1982), ce qui expliquerait les pourcentages de capacité de reproduction. Par ailleurs, Amir et al. (2018) ont montré que globalement sur sols ultramafiques en Nouvelle-Calédonie, l'installation de recrûs est plus aisée sur un sol meuble et/ou fertile (cas de A2 vs A3) que sur un sol induré et/ou peu fertile (cas de A1), ce qui est montré ici de manière plus fine. On remarque cependant que la plantation A1 présente une capacité de régénération importante de l'ordre de 19% malgré le sol induré, ce qui pourrait s'expliquer par le fait observé sur le terrain que les plantules s'installent sur les faibles surfaces où les blocs de cuirasse ne sont pas présents et où l'on trouve une couche peu épaisse de latérite rouge gravillonnaire. Par conséquent, il faudrait suivre la croissance de ces plantules et voir si elles survivent aux conditions difficiles (sol meuble en surface mais induré à partir d'une certaine profondeur) dans lesquelles elles se sont installées.

Si l'on s'attache à étudier l'impact des végétations alentours sur la colonisation de la plantation par de nouvelles espèces, on constate globalement une installation quasi équivalente des recrûs strictement issus des milieux environnants sur les 3 plantations. Cependant, en considérant les recrûs pouvant provenir d'individus plantés et/ou des milieux alentours, on constate en particulier pour A2 des proportions importantes (84%). Ceci confirme son caractère attractif du fait de meilleures conditions édaphiques et d'un couvert végétal plus dense créant de l'ombrage et un apport plus important de litière engendrant des microclimats favorables à la germination des graines et à l'installation des plantules. Toutefois, au regard de la diversité spécifique et du nombre de recrûs apparus, l'insertion de ces plantations dans le paysage avec une assez bonne connectivité avec les formations végétales environnantes et des flux de dispersion élevés avec ces dernières amplifie ce phénomène. Ces résultats sont en accord avec l'étude de White et al. (2004) qui ont montré que la localisation d'une plantation dans le paysage peut affecter la diversité spécifique en son sein. Il semblerait que les blocs de cuirasse présents sur la plantation A1 restreignent l'installation des plantules malgré sa bonne connectivité avec les végétations alentours. Quant à la plantation A3, elle a été mise en place sur un sol argileux exposé aux vents et est entourée de plus grandes surfaces dénudées. Ces éléments peuvent contribuer à une intensité lumineuse importante à la surface du sol qui influence la température et l'humidité de ce dernier. Les conditions du sol

précédentes peuvent affaiblir la densité de la régénération naturelle au sein des plantations (Holl et al., 2000).

Si l'on s'attache au cas particulier de l'espèce *Gymnostoma deplancheanum* (Annexe 7), on observe un taux important de plantules de cette espèce sur les plantations A1 et A2 par rapport à la plantation A3 (1960 i.e 81% et 4499 i.e 57% des plantules des plantations A1 et A2 respectivement appartiennent à l'espèce *G. deplancheanum*, contre 328 i.e 44% pour la A3). N'ayant pas d'information sur l'origine des plantules de *G. deplancheanum* qui peuvent provenir tant des individus plantés que ceux présents dans le milieu environnant, on émet l'hypothèse que la proximité entre ces plantations et la végétation naturelle voisine (dominée par du maquis arbustif dense ou du maquis paraforestier à *G. deplancheanum*) influence l'augmentation du nombre de plantules de cette espèce. Par ailleurs, l'espèce *Myodocarpus fraxinifolius* plantée sur A2 et pas sur les deux autres, a contribué à l'apport important de 1492 i.e 19% des plantules. Ce même phénomène est à observer pour *Grevillea exul subsp. rubiginosa* sur les 3 plantations avec malgré tout un bémol puisque cette espèce est présente en MAO qui est situé beaucoup plus loin des plantations de l'« ancienne pépinière » et a donc moins de chance d'en être à l'origine. Plusieurs études ont montré que la composition en espèces et la structure de la végétation plantée peuvent améliorer l'apport de semences (Barbosa & Pizo, 2006 ; Zamora & Montagnini, 2007) et par conséquent affecter la composition spécifique de la régénération naturelle des plantations (Mesquita et al., 2001 ; Powers et al., 1997 ; Sansevero et al., 2011).

Enfin, il est important de noter que quelle que soit la plantation considérée sur la zone dite de l'« ancienne pépinière », la densité au mètre carré des plantes par classe de taille est faible et s'explique par la faible densité des individus de taille supérieure à 10 cm. Autrement dit même si la présence d'un nombre important de plantules a été constatée, il n'en reste pas moins que leur survie et le maintien d'individus à long terme est plus complexe. Cependant la tendance la plus positive avec 37% de plantules et 2,1% d'individus de taille supérieure à 10 cm se retrouve sur la plantation A2. A ce stade, ces plantations n'ont pas encore développé toutes les strates de la végétation observées dans l'écosystème de référence qu'est le maquis arbustif dense. En tenant compte de la structure de la végétation, ces plantations sont encore très jeunes, car la densité de plantules y est élevée alors que celle des individus supérieurs à 10 cm est y faible (Annexe 6). La structure verticale de la végétation devra se développer davantage pour atteindre celui du maquis dense. Cependant, on peut considérer que les plantations de l'« ancienne pépinière » sont sur une bonne voie car elles présentent des indices moyens (2 à 3) d'espèces communes au MD. Plus encore dans le cas de la plantation A2 qui présente un pourcentage d'espèces zoochores communes au MD important (34%), qui de par leur présence devrait attirer les disperseurs potentiels qui permettront à terme de réduire le gap de 66% du nombre d'espèces présentant ce type de dispersion (Sansevero et al., 2011 ; Wunderle, 1997). Le nombre d'espèces anémochores communes au MD sur la plantation A2 est quant à lui remarquablement élevé avec 68%.

❖ Les plantations de l'« ancienne pépinière » (A1, A2 et A3) et celle de la Kuebini (B)

L'objectif de cette analyse entre des plantations d'âge différent mais d'implantation géographique globale proche (Figure 50B) et de densité très proche est d'apprécier l'effet de l'apport d'un très grand nombre d'espèces (34 contre 3 ou 4) diverses par leur morphologie et leur type de dispersion mais aussi l'impact de l'intégration de cette plantation dans un paysage très différent (distance à la végétation, barrière écologique, ouverture du milieu etc.).

Les plantations A1, A2 et A3 sont dans l'ensemble moins menacées que la plantation B car la zone de l'« ancienne pépinière » où se situent ces trois plantations est peu accessible depuis la piste principale, l'entrée de la zone ayant toujours été bloquée par un portail verrouillé, alors que la plantation B, elle se situe au bord d'une piste fréquentée par les chasseurs, les exploitants de bois et les employés de l'entreprise minière voisine. De nombreuses études ont pu montrer l'influence néfaste de la présence humaine sur la colonisation des milieux par des espèces envahissantes (Mack et al., 2000 ; Pickering & Mount 2010 ; Seabloom et al., 2006). De plus, l'espèce *Dodonaea viscosa* a été plantée sur la zone revégétalisée de la Kuebini (B) alors qu'elle n'est pas présente dans les maquis alentours de la zone d'étude. Cette dernière est connue comme une espèce indigène à caractère pionnier qui peut se développer sur sol ultramafique et dans les maquis miniers à moins de 500m d'altitude (L'Huillier et al., 2010 ; FLORICAL vers. 22.IV.2016: Morat et al., 2012 ; Munzinger et al., 2016). Ce caractère se confirme ici car elle s'est développée rapidement sur la plantation B. En effet, lors du relevé, 1691 recrûs de *D. viscosa* (Annexe 7), soit 45% des recrûs totaux, ont été répertoriés. Ceci laisse à penser qu'elle risque d'entrer en compétition à terme, pour l'espace et les nutriments en faible teneur du sol (L'Huillier et al., 2010), avec les espèces endémiques qui pourraient s'installer et qui elles sont naturellement présentes dans le maquis arbustif dense alentour. C'est pour ces raisons que cette espèce native a été prise en compte dans les espèces indésirables.

Lorsque l'on compare les indices du progrès de rétablissement pour la composition spécifique, on se rend compte qu'ils sont équivalents pour les zones A1, A2 et B et que celui de la zone A3 est plus faible. Cependant en analysant les pourcentages d'espèces communes on constate que ceux-ci sont supérieurs sur A1 et A2 par rapport à B. On aurait pu s'attendre à ceci du fait de l'âge des plantations de l'« ancienne pépinière » i.e. 19 ans contre 14 ans pour celle de la Kuebini. A contrario, du fait d'une implantation d'un plus grand nombre d'espèces sur la zone B i.e. 34 espèces dont 16 communes au MD, contre 2 à 3 espèces sur les zones A1, A2 et A3, on aurait pu s'attendre à une évolution plus rapide vers le MD. Or la progression est moyenne sur la plantation B et peut s'expliquer par le fait que 26,5% des espèces sont mortes (Annexe 4) et qu'au final, seules 11 espèces communes au MD aient survécu avec en parallèle un enrichissement très faible (1%) de la plantation par les milieux environnants. A l'inverse, même si la progression des plantations de l'« ancienne pépinière » est considérée comme moyenne, elle n'est pas moins bonne et est due à la connexion importante entre les plantations et le milieu naturel qui entraîne un apport extérieur de diversité spécifique plus important. Ce dernier point confirme encore le fait que la localisation de la plantation dans le paysage et la faible distance entre la plantation et la bordure de la forêt (White et al., 2004 ; Zanne & Chapman, 2001) affectent positivement la richesse spécifique au

sein des plantations. De plus, l'emplacement de la plantation est important pour les agents de dispersion des graines (mammifère, oiseaux, vent) qui diffèrent par leur capacité à transporter les graines et qui par conséquent déterminent le succès de la régénération d'espèces d'arbre indigène au sein des plantations (Kuusipalo et al., 1995 ; Parrotta et al., 1997).

Lorsque l'on observe la composition spécifique des plantations, on constate que l'indice des espèces anémochores communes au maquis dense est supérieur à celui des espèces zoochores. Il est bien connu que les premières espèces à recoloniser les espaces ouverts (ici nos plantations) sont de type anémochores (Bonet & Pausas, 2004 ; Hodgson & Grime, 1990 ; Rehoukova & Prach, 2010), ce qui pourrait expliquer cette prédominance. Par contre, plus la plantation évolue vers une structure fermée, plus la colonisation par des espèces zoochores a des chances d'être élevée. En effet, les espèces transportées par les animaux sont dominantes dans les régions tropicales et subtropicales (Wunderle, 1997) et dans la régénération naturelle de la forêt tropicale (Howe & Smallwood, 1982 ; Jordano, 2000) ; ainsi que dans le maquis arbustif dense. C'est certainement la raison pour laquelle la plantation A2 qui présente les individus plantés de plus grande taille et dont la surface de houppier est la plus importante, présente également le nombre (22) et la proportion la plus importante d'espèces zoochores (34%) dont 96% sont issues du milieu environnant. Pour la plantation B, le nombre d'espèces zoochores plantées est très largement supérieur à celui des plantations A1, A2, et A3. Malgré tout, on constate que seules 3 nouvelles espèces zoochores ont colonisé cette zone, laissant penser que les distances avec les milieux environnants sont trop grandes pour permettre des échanges importants malgré l'attraction potentielle des 13 espèces zoochores plantées. Ceci est renforcé par les résultats montrant un apport en diversité spécifique et un enrichissement de la plantation plus faibles. En effet, seulement 29 plantules représentées par huit nouvelles espèces ont recolonisé cette plantation. La faible connexion de cette zone, entourée de sols nus et de maquis ouvert sur cuirasse (Figure 50), aux formations végétales denses alentours, constitue une barrière aux transports des graines par certains animaux et expliquerait ce flux de dispersion moyen. En effet, il a été montré qu'une recolonisation des plantations par des espèces dispersées par les animaux peut être limitée quand les parcelles plantées ne sont pas adjacentes aux sources de semences, mais sont entourées de paysages servant de barrières aux animaux disséminateurs de graines (Bierregaard & Stouffer, 1997 ; da Silva et al., 1996). Il a également été montré que la richesse spécifique et la densité des individus dans une plantation diminuaient quand la distance entre la lisière de la plantation et de la forêt augmentait (Hardwick et al., 1997 ; Parrotta, 1993 ; Zanne & Chapman, 2001).

Par rapport aux plantations de l'« ancienne pépinière », le taux de survie de la plantation B est très faible. Il est assez difficile d'expliquer ce taux, plusieurs hypothèses pourraient être avancées : état de santé des plants, absence de travail du sol ayant limité l'implantation, espèces pas suffisamment résistantes à des conditions de milieu ouvert, etc. Tous ces éléments ont été rapportés comme essentiels par Fogliani et al. (2018) dans la réussite des plantations sur sols ultramafiques en Nouvelle-Calédonie.

Malgré tout, il semble important de relativiser ces aspects négatifs de la plantation B qui est plus récente pouvant expliquer la productivité globale des espèces plantées plus faible car ayant une taille moyenne et un pourcentage de recouvrement plus faibles que les plantations

de l'« ancienne pépinière ». Il n'en reste pas moins que sur cette zone la densité des individus de taille supérieure à 10 cm est la plus importante et elle pourrait rattraper son retard.

Encadré 6 : Les zones revégétalisées en chiffres

- On dénombre 24, 34, 19 et 8 espèces apparues dans les plantations A1, A2, A3 et B respectivement.
- La plantation A2 est la plus développée avec un enrichissement de 2829 recrûs issus du milieu naturel alentour et avec une densité de topsoil plus important de 271 levées par m². La capacité de reproduction et de régénération des individus plantés sont toujours meilleures pour la plantation A2 (indice 2 et 3 respectivement) que pour les plantations A1 et A3. La hauteur moyenne et le recouvrement des houppiers des individus plantés sont plus importants dans la plantation A2 que pour les deux autres et ce alors qu'il s'agit des mêmes espèces.
- Par rapport aux plantations de l'« ancienne pépinière », le taux de survie de la plantation B est très faible. Il a été constaté que seules 3 nouvelles espèces zoochores ont colonisé cette zone, laissant penser que les distances avec les milieux environnants sont trop grandes pour permettre des échanges importants malgré l'attraction potentielle des 13 espèces zoochores plantées. Seulement 29 plantules représentées par huit nouvelles espèces ont recolonisé cette plantation. La banque de graines de cette dernière est peu diversifiée et composée essentiellement de *Scaevola* (67% des levées représentant 100% des levées de Dicotylédones) majoritairement issu des individus plantés et de *Costularia comosa*, Cypéracée naturellement dispersée par le vent.
- La plantation C qui n'a fait l'objet que d'une étude de sa banque de graines du sol et d'observations ponctuelles montre l'intérêt du gaïac comme plante nurse sur une latérite jaune. Ce dernier semble favoriser l'enrichissement du sol et l'implantation sous les individus de cette espèce d'une végétation issues des milieux alentours en particulier du genre *Scaevola* (non planté) mais qui présente une richesse importante en nombre de graines contenues dans la banque du sol (76% des levées totales dont 90% des levées de Dicotylédones).

4.1.5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au stade actuel, après 19 et 14 ans, les plantations étudiées n'ont pas atteint le stade de maquis arbustif dense (MD). Les résultats de cette étude ont montré que le rétablissement vers la formation végétale cible diffère entre les plantations. Dans l'ordre croissant de leur évolution vers le MD, on observe en premier la plantation A2, suivi de la parcelle A1, puis de la zone A3 et enfin la plantation B. Quelle que soit la plantation considérée, le caractère de croissance lent des espèces de milieux ultramafiques est confirmé (Jaffré et al., 1993) du fait essentiellement des caractéristiques de ces sols pauvres en éléments minéraux et riches en

métaux lourds. Le choix de la zone d'étude au début de ce travail de thèse a été fait en connaissance de cause afin de permettre des interprétations robustes à partir de plantations qui n'ont pas été mises en place dans un cadre scientifique. Ainsi, les plantations sélectionnées n'étaient pas réalisées sur des zones sur lesquelles du topsoil aurait pu être apporté. Celui-ci aurait sans aucun doute permis d'augmenter les taux de survie et les taux de productivité (croissance, floraison, fructification, recouvrement) comme cela a été largement montré (Amir et al., 2014 ; Amir et al., 2018; Bordez et al., 2018; Fogliani et al., 2018) mais de par sa banque de graines, il aurait été difficile d'identifier l'origine des recrûs. Ainsi, il apparaît évident que pour une meilleure réussite l'utilisation du topsoil est essentiel et il serait très intéressant de mettre en place une expérimentation de même type afin d'évaluer son apport en plus de celui des milieux environnants en fonction des espèces plantées. Quoiqu'il en soit, les données de cette étude sont exploitables dans le cadre de la restauration de zones dégradées (anciennes mines orphelines ou récentes) où il y a peu ou pas de topsoil.

L'évaluation des quatre anciennes zones revégétalisées par plantation a montré des différences dans la manière dont chacune d'elle influence le rétablissement vers un maquis arbustif dense. Les résultats indiquent que les performances du recouvrement des plantations varient en fonction des conditions du sol, du nombre d'espèces plantées et de la composition spécifique ainsi que de l'intégration dans la matrice paysagère. La plantation A2 s'est révélée être la plus développée de par le type sol (latérite rouge) et la forte connexion avec le milieu naturel environnant.

Dans le cadre de futurs travaux de restauration plusieurs recommandations peuvent être proposées suite à cette évaluation :

- La plantation devra être menée sur un sol préférentiellement de latérite rouge (additionné de topsoil, non issue de ces travaux, cf Fogliani et al., 2018) qui aura préalablement été travaillé en surface (Amir et al., 2018 ; Fogliani et al., 2018)
- En fonction de la distance et de la nature des formations végétales environnantes, l'effort à fournir lors de la mise en place des plantations sera différent, car ces 2 facteurs influencent directement le flux de dispersion des propagules.

La première étape essentielle consistera à définir la végétation cible.

Ensuite plusieurs cas peuvent se présenter :

- Cas 1 : si la zone à restaurer est située à proximité de la végétation naturelle et entourée par des formations végétales à forte diversité floristique, il est possible de planter un nombre peu élevé d'espèces appartenant au cortège floristique des végétations environnantes, pionnières, présentant une vitesse de croissance rapide et un houppier de large surface. Ces éléments permettront de créer une zone d'accueil favorable à des recrûs provenant des individus environnants.
- Cas 2 : lorsque la zone dégradée est entourée de formations végétales à faible diversité floristique et que les milieux forestiers sont éloignés, il est préconisé de planter un nombre d'espèces plus élevé présentant les mêmes caractéristiques que celles exposées dans le cas 1.
- Cas 3 : si la zone de plantation est très éloignée de végétations sources de propagules, il conviendra en plus de la plantation d'un nombre important d'espèces, d'envisager une restauration complémentaire afin de recréer des continuités

écologiques entre cette plantation de grande surface et le milieu forestier par l'utilisation de la méthode des « pas japonais » qui consiste à mettre en place une succession d'habitats (plantation d'arbre) de surface généralement réduites, distants les uns des autres et dont la structure et la composition en espèce doivent prendre en compte les mêmes caractéristiques que la végétation.

- Il est recommandé aux gestionnaires (mineurs ou collectivités territoriales), de co-construire les objectifs des opérations de restauration avec les instituts de recherche afin de faciliter l'évaluation du succès des travaux en favorisant de fait une meilleure articulation d'activités de recherche-action.

A noter que, quel que soit le cas considéré, il apparaît essentiel d'introduire un nombre non négligeable d'espèces zoochores, nombre qui doit augmenter proportionnellement avec l'augmentation de la distance à la végétation la plus proche et ce afin d'attirer les animaux disséminateurs et améliorer le recrutement dans la régénération naturelle des plantations. La proportion d'espèces zoochores devrait être égale ou supérieure à celle des espèces anémochores mais idéalement, il est recommandé de se rapprocher du ratio existant entre ces espèces dans le milieu de référence à restaurer. De plus, il serait également intéressant de maîtriser la connaissance concernant les périodes de fructification des espèces à planter car pendant ces périodes, la diversité et la densité des graines dispersées par les oiseaux augmentent (Clark et al., 2004; Sansevero et al., 2011) et il serait intéressant d'implanter des espèces de fructification décalée dans le temps pour avoir une disponibilité continue des fruits au sein des plantations (Fink et al., 2009).

Par ailleurs, les espèces à utiliser, au-delà du fait qu'elles doivent appartenir au cortège floristique des végétations environnantes, devraient idéalement être présentes tout le long de la succession écologique, espèces présentant une forte plasticité phénotypique leur permettant d'être adaptées tant aux milieux ouverts qu'aux environnements forestiers. Ceci a fait l'objet d'une étude de cas qui propose une liste d'espèces candidates et pour certaines d'entre-elles les moyens de les produire par étude de leur phénologie, germination, capacité de tolérance à la dessiccation (Ititiaty, 2019).

Si l'on considère notre étude de cas, on constate que les plantations A1 et A2 de l'« ancienne pépinière » sont sur une assez bonne trajectoire pour atteindre le maquis arbustif dense, ce qui est en grande partie liée à la proximité de ces parcelles avec la végétation naturelle. La trajectoire de rétablissement des plantations A3 et B est plutôt moyenne et est liée à la connexion faible ou moyenne avec le milieu naturel dense environnant et au type de sol pour la plantation A3.

Si l'on considère que l'indice 3 de la roue de rétablissement est un objectif moyen à atteindre pour considérer que la plantation est sur la bonne voie, on constate qu'il conviendrait d'avoir des actions à certains niveaux contrôlables au sein des plantations :

- ainsi, concernant les menaces, il convient de poursuivre la surveillance des impacts potentiels des espèces envahissantes animales ou végétales et d'intervenir le cas échéant. Plus spécifiquement pour la plantation B, la présence en grand nombre de *Dodonaea viscosa*

et son effet à long terme est à évaluer pour éviter qu'elle n'ait un effet néfaste sur l'enrichissement spécifique de la plantation.

- concernant la composition spécifique, il faudrait envisager un enrichissement par de nouvelles plantations d'espèces zoochores sur la zone A3 et sur la plantation B afin d'augmenter l'attraction des animaux mais aussi le couvert végétal qui de fait augmentera les possibilités d'implantations de nouvelles recrûs et leur installation sur le long terme. Plus encore pour la plantation B, du fait de la mortalité des plants, il conviendrait de les remplacer afin de maintenir une densité suffisante. Pour améliorer les plantations, il est également proposé de renforcer la diversité spécifique en plantant des individus de sous bois, adaptés à la succession végétale vers la forêt et appartenant au MD.

Suite à ces travaux de thèse (Ititiaty, 2019) et aux divers travaux réalisés récemment (Zongo et al., 2014, Bordez et al., 2018, Fogliani et al., 2018, Amir et al., 2018) dans le but d'améliorer les pratiques de restauration écologique, nous proposons qu'à l'avenir soient mises en place des continuités écologiques dans les zones sujettes à la fragmentation, recommandation déjà émise dans le cadre du guide Topsoil édité par le CNRT (Bordez et al., 2018). Lorsque les fragments constituant des réservoirs de biodiversité et de semences (en vert clair sur la Figure 60) sont proches, nous préconisons la mise en place de continuités en couloir linéaire et lorsqu'ils sont éloignés, nous préconise ceux de type « pas japonais » (Figure 60). Ces derniers pourront être réalisés sans topsoil ou avec topsoil préférentiellement lorsque celui-ci est disponible (Figure 60) et en respectant les recommandations ci-dessus (utiliser les espèces pionnières et les espèces candidates, augmenter la diversité d'espèces zoochores utilisées dans les plantations, utiliser une faible diversité spécifique dans le cas où les plantations sont réalisées près des réservoirs de biodiversité et augmenter la diversité lorsque l'on s'en éloigne). Pour obtenir de meilleurs résultats, il est également préconisé de répandre le topsoil (sources de propagules, de microorganismes et d'éléments fertiles) sur les zones de plantation (en vert foncé sur la Figure 60). Ainsi, au fil du temps, les graines présentes dans le topsoil germent et les végétaux plantés se développent en hauteur et en diamètre (T1, Figure 60). Ensuite, les individus plantés fructifient et attirent les oiseaux, ce qui entraîne la dissémination des végétaux plantés et des patches alentours (T2, Figure 60). Enfin, les îlots s'étendent et permettent la reconnexion entre les réservoirs de biodiversité (T3, Figure 60). La distance optimale entre les îlots reste encore à déterminer, cependant les distances de dispersion des espèces zoochores (Annexe 8) déterminées lors de l'évaluation des plantations présentent une base et doivent être implémentées.

De manière plus idéale encore, si du topsoil frais ou « vieux » (stocké sur une période supérieure à 3 mois, à éviter autant que possible) est accessible, il conviendrait de l'intercaler avec les plantations en « pas japonais » (en orange sur la Figure 60). Il pourra ainsi, s'il est frais, voir sa banque de graines germer et pourra être colonisé par dispersion. Si ce dernier est « vieux », ses caractéristiques physique et chimiques favoriseront à minima l'installation d'espèces par colonisation.

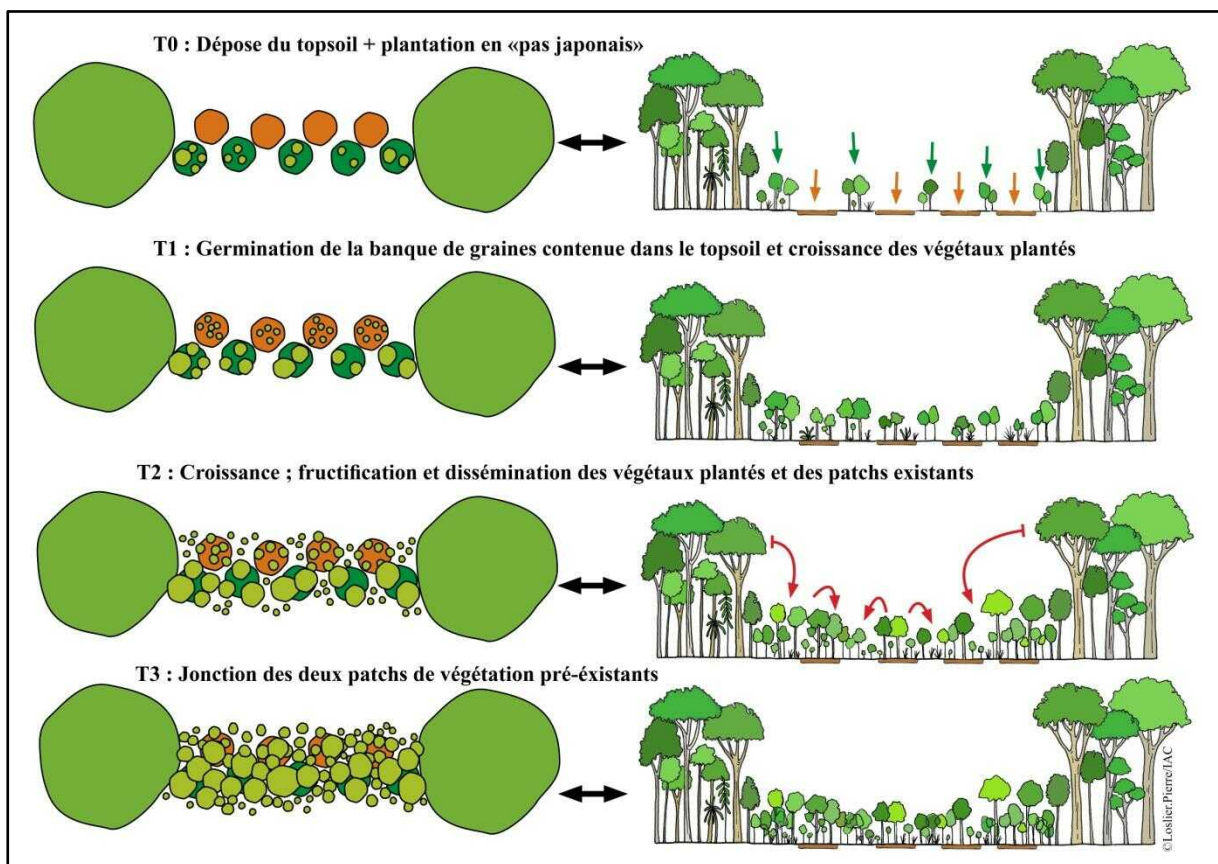


Figure 60 : Illustration d'une restauration de continuités écologiques sous forme de « pas japonais » par l'utilisation de topsoil (en orange) et de plantation avec ou sans topsoil (en vert foncé) et évolution dans le temps pour aboutir à la restauration des connectivités (Illustrations de P. Loslier : A gauche vue de dessus, à droite vue de profil ; Bordez et al. 2018).

Enfin, en Nouvelle-Calédonie, il est important de rappeler que la restauration écologique est indissociable de la conservation des habitats. Par conséquent, il est recommandé de protéger les fragments restants de forêt et les formations végétales denses (maquis dense, maquis paraforestier et maquis préforestier) aux alentours car ils constituent des sources importantes de semences et contribuent fortement à la régénération naturelle des zones restaurées par plantation.

Finalement, que faut-il retenir sur les communautés végétales ?

- Les formations MD-MPGd-MP sont ordonnées dans un ordre bien caractéristique, ce qui tend à montrer un début de succession végétale entre ces formations.
- Il faut définir un écosystème de référence avant la mise en place de programme de restauration.
- Il est proposé d'utiliser la roue de rétablissement utilisé par la SER pour évaluer la trajectoire de rétablissement des plantations par rapport à un écosystème de référence en utilisant les attributs tels que définis et qui s'appliquent aux milieux ultramafiques spécifiquement.
- La banque de graines du topsoil constitue un bon indicateur biologique car elle permet d'évaluer la capacité de régénération des espèces qu'elles soient issues des individus plantés ou des individus présents dans les milieux naturels alentours, révélant de fait le dynamisme de recolonisation.
- La restauration active par plantation doit préférentiellement se faire sur de la latérite rouge.
- Lors de campagne de plantation, il conviendrait d'augmenter la part d'espèces zoochores et de faire en sorte que le nombre d'espèces zoochores soit supérieur aux espèces anémochores.
- Il est important de confirmer le mode de dispersion des espèces et d'évaluer la distance de dispersion pour chaque espèce.
- Il conviendrait également de protéger les roussettes et les grands oiseaux pour maintenir la dispersion des grosses graines et la dispersion sur de longues distances.
- Il faut également protéger les fragments restants de forêt et les formations végétales denses aux alentours qui constituent des sources importantes de semences.
- Il faudrait prioriser la liste d'espèces « candidates » et réaliser des études supplémentaires sur la phénologie, la germination et la tolérance à la dessiccation des graines de ces espèces.
- Enfin l'étude de ces plantations a permis de faire ressortir 3 cas pour lesquels l'effort de restauration à fournir sera différent en fonction de la distance à la plantation et du type de formation aux alentours :
 - Cas 1 : lorsque la plantation est proche de formations végétales à forte diversité floristique, il faut planter un nombre moins élevé d'espèces appartenant au cortège floristique des végétations environnantes, pionnières, à croissance rapide et à houppier de large surface (exemple du cas de plantation A2).
 - Cas 2 : lorsque la plantation est proche de formations végétales à faible diversité floristique, il est recommandé de planter un nombre d'espèces plus élevé ayant les mêmes caractéristiques citées précédemment (exemple du cas de plantation B).
 - Cas 3 : si la plantation est éloignée de végétations sources de propagules, il faudrait alors planter un nombre important d'espèces et prévoir une restauration complémentaire par des continuités écologiques en « pas japonais » dont la structure et la composition en espèces doivent prendre en compte les mêmes caractéristiques que la végétation.

4.1.6. PERSONNEL NON-PERMANENT ET PRODUCTION SCIENTIFIQUE

Thèse de doctorat réalisée dans le cadre du projet Bioindic sur l'écologie des semences et les communautés végétales :

- Ititiaty, Y., 2019. « Etude sur la dispersion/germination en lien avec la dynamique des écosystèmes restaurés : le cas du plateau de Goro en Nouvelle-Calédonie ». Thèse de doctorat ès Science en Physiologie et biologie des organismes-population-interaction Spécialité : Ecologie et physiologie végétales appliquées, Université de la Nouvelle-Calédonie, 248 pp.

Stagiaires :

- Loslier P. 2016. Etude de la dispersion et germination d'espèces végétales du plateau de Goro en lien avec les écosystèmes restaurés. Rapport de stage IAC/Université de Caen/Basse Normandie, Institut de biologie fondamentale et appliquée. Master 2 ECOCAEN "Gestion et valorisation agro-environnementales", 93p. Encadrants : Ititiaty Y, et Fogliani B ;
- De Gail M. 2017. Etude de la germination d'espèces végétales du plateau de Goro en Nouvelle-Calédonie. Rapport de stage de césure IAC/ AgroParisTech-L'Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement, 37p. Encadrants : Ititiaty Y, Fogliani B ;
- Vincent E. 2017. Etude de la germination d'espèces végétales du plateau de Goro en Nouvelle-Calédonie. Rapport de stage IAC/Université de la Nouvelle-Calédonie, Licence 2 de Science de la Vie, de la Terre, Mention Sciences de l'Environnement, 30p. Encadrants : Ititiaty Y, Fogliani B.

Communications à des congrès :

- Ititaly Y, Zongo C, Tiavouane J, Brescia F, et Fogliani B. 2016. "Ecosystem services restoration by seed dispersion approach, the case of the Goro plateau and germination study of some genera from New Caledonia". "Seed Science Forum", 14-16 march, Australian Botanic Gardens, Mount Annan, New South Wales, Australia. (Prix "Award for Highly Commended Early Career Oral Presentation") (communication orale);
- Fogliani B, Ititiaty Y, Brescia F, Zongo C, et L'Huillier L. 2016. "Recolonisation strategies developed by pioneer plants of New Caledonia through their seeds and implications for restoration of ecological continuum on ultramafic soils". Seed ecology V-2016: "Seeds in the Web of Life", 21-25 august 2016, Caeté, Minas Gerais, Brazil. (Communication orale) ;
- Fogliani B, Ititiaty Y, Loslier P, Brescia F, et Zongo C. 2016. Study on dispersal and germination in link with the restored ecosystem dynamics. ERA (Ecology and Restoration Australasia) international joint conference of the Society for Ecological Restoration Australasia (SERA) & the New Zealand Ecological Society (NZES), 20-23 novembre, Hamilton, New Zealand (oral communication);
- Ititiaty Y, Fogliani B*, Loslier P, McCoy S, Gensous S, et Brescia F. 2019. Using dispersal and germination life traits of native vegetation to promote ecological

restoration in southern New Caledonia. 8th World Conference on Ecological Restoration, September 24–28 Cape Town, South Africa.

Publications scientifiques :

- Ititiaty Y, Brescia F, Bordez L, Gensous S, McCoy S, et Fogliani B. 2019. Life traits of ultramafic plant taxa from the Goro plateau in the tropical hotspot of New Caledonia. *Restoration Ecology*, sous presse.

Personnel engagé :

- Guillaume LANNUZEL VSC ingénieur du 07 mars 2016 au 06 juillet 2016 inclus ;
- Yawiya ITITIATY étudiante en Thèse : Bourse d'encouragement à la recherche IAC de février 2018 à janvier 2019 inclus ;
- Yawiya ITITIATY CDD ingénieur du 15 mai au 14 juin 2019 inclus ;
- Marie DeGAIL Stagiaire du 26 septembre 2016 au 24 février 2017.

4.1.7. REFERENCES

Amir, H., Fogliani, B., Gensous, S., Durrieu, G., L'Huillier, L., Saintpierre, D., Lagrange, A., Reck, A., Gaillard, T., 2018. Analyse et synthèse des expérimentations et actions de restauration écologique réalisées sur sites miniers en Nouvelle-Calédonie depuis 30 ans. Rapport final CNRT « Nickel & son environnement » du projet Recosynth, CNRT/UNC/IAC/SIRAS-Pacifique/Bota-Environnement, 294p.

Amir, H., L'Huillier, L., Fogliani, B., Cavaloc, Y., Jourand, P., Marjorel, C., Hannibal, L., Saintpierre, D., Gunkel-Grillon, P., Echevarria, G., Mouchon, L-C., Bonis, M-L., Montarges-Pelletier, E., Maggia, L., Wulff, A., 2014. Caractérisation et fonctionnement du système sol/plante/microorganismes dans les maquis miniers. Perspectives d'application à la restauration écologique. Rapport Final - Projet ECOMINE BIOTOP - CNRT « Nickel & son environnement, Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

Aubreville, A., Leroy, J-F., MacKee, H.S., Morat, P., et al., 1967-2004. Flore de la Nouvelle-Calédonie et Dépendances. Volume 1-25. Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.

Barbosa, K.C., Pizo, M.A., 2006. Seed rain and seed limitation in a planted gallery forest in Brazil. *Restor. Ecol.* 14, 504–515.

Bierregaard Jr, R.O., Stouffer, P.C., 1997. Understory birds and dynamic habitat mosaics in Amazonian rainforests. in Laurance, J.W.F., Bierregaard, R.O., (Eds.), *Tropical forest remnants: ecology, management, and conservation of fragmented communities*. The University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA, pp 138-155.

Bonet, A., Pausas, J.G., 2004. Species richness and cover along a 60-year chronosequence in old-fields of southeastern Spain. *Plant Ecol.* 174, 257–70.

Bordez, L., Fogliani, B., L'Huillier, L., Amir, H., 2018. Guide sur l'utilisation des topsoils en restauration écologique des terrains miniers de Nouvelle-Calédonie, ED. CNRT Nickel et son Environnement, 91 pages.

Braun-Blanquet, J. 1932. Plant sociology, the study of plant community. McGraw Hill Book Co. Inc., New York, London, 439 pages.

Clark, C.J., Poulsen, J.R., Connor, E.F., Parker, V.T., 2004. Fruiting trees as dispersal *foci* in a semi-deciduous tropical forest. *Oecologia*. 139, 66–75.

da Silva, J.M.C., Uhl, C., Murray, G., 1996. Plant succession, landscape management, and the ecology of frugivorous birds in abandoned Amazonian pastures. *Conserv. Biol.* 10, 491-503.

Fink, R.D., Lindell, C.A., Morrison, E.B., Zahaki, R.A., Holl, K.D., 2009. Patch size and tree species influence the number and duration of bird visits in forest restoration plots in Southern Costa Rica. *Restor. Ecol.* 17, 479–486.

Fogliani, B., Amir, H., Gensous, S., L'Huillier, L., Durieux, G., 2018. Guide technique : la restauration écologique des terrains miniers, version provisoire, 69 pages.

Hardwick, K., Healey, J., Elliott, S., Garwood, N., Anusarnsunthorn, V., 1997. Understanding and assisting natural regeneration processes in degraded seasonal evergreen forests in northern Thailand. *Forest Ecol. and Manag.* 99, 203-214.

Hodgson, J.G., Grime, J.P., 1990. The role of dispersal mechanisms, regenerative strategies and seed banks in the vegetation dynamics of the British landscape. In: Bunce, R.G.H., Howard, D.C., (Eds.), Species Dispersal in Agricultural Habitats. Belhaven Press, London, UK, pp. 65-81.

Holl, K.D., Loik, M.E., Lin, E.H., Samuels, I.A., 2000. Tropical montane forest restoration in Costa Rica: overcoming barriers to dispersal and establishment. *Restor. Ecol.* 8, 339–349.

Howe, H.F., Smallwood, J., 1982. Ecology of seed dispersal. *Annu. Rev. Ecol. S.* 13, 221–228.

Ititiaty, Y. 2019. « Etude sur la dispersion/germination en lien avec la dynamique des écosystèmes restaurés : le cas du plateau de Goro en Nouvelle-Calédonie ». Thèse de doctorat ès Science en Physiologie et biologie des organismes-population-interaction Spécialité : Ecologie et physiologie végétales appliquées, Université de la Nouvelle-Calédonie, 248 pp.

Jaffré, T., Dagostini, G., Rigault, F., 2003. Identification typologie et cartographie des groupements végétaux de basse altitude du grand sud caledonien et de la vallée de la toutouta. Convention IRD/Province Sud (Sci. Vie, Bota. Convention, n° 12), 63 pages.

Jaffré, T., Rigault, F., Sarrailh, J.M., 1993. Essais de revégétalisation par des espèces locales d'anciens sites miniers de la région de Thio. ORSTOM-Cirad-Province Sud-SLN, Nouméa. (Sci. Vie, Bota. Convention, n°7), 31 pages.

Jordano, P., 2000. Fruits and frugivory. In: Fenner, M., (Eds.), Seeds: the ecology of regeneration in plant communities. Commonwealth Agricultural Bureau International, Wallingford, UK, pp 125–166.

Kuusipalo, J., Goran, A., Jafarsidik, Y., Otsamo, A., Tuomela, K., Vuokko, R., 1995. Restoration of natural vegetation in degraded Imperata cylindrica grassland: understory development in forest plantations. *J. Veg. Sci.* 6, 205–210.

Larcher, W., 2003. *Physiological Plant Ecology: ecophysiology and stress physiology of Functional Groups*, Springer Science & Business Media, 513 pages.

L'Huillier, L., Jaffré, T., Wulff, A., 2010. *Mine et environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration*. IAC Editions, Nouméa, Nouvelle-Calédonie, 412 pages.

Mack, R.N., Simberloff, D., Mark Lonsdale, W., Evans, H., Clout, M., Bazzaz, F.A. 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecol. Appl.* 10, 689–710.

Mazliak, P., 1982. *Physiologie végétale, croissance et développement tome III*. Ed. Hermann éditeurs des sciences et des arts, collecte méthodes, paris. 575 pages.

McCoy, S., Jaffré, T., Rigault, F., Ash, J.E., 1999. Fire and succession in the ultramafic maquis of New Caledonia. *J. Biogeogr.* 26, 579-594.

McDonald, T., Gann, G.D., Jonson, J., Dixon, K.W., 2016. *International Standards for the Practice of Ecological Restoration – Including Principles and Key Concepts*. Society for Ecological Restoration, Washington, DC. Traduction française : *Standards internationaux pour la restauration écologique - incluant les principes et les concepts clés*. Society for Ecological Restoration, Washington, D.C., 50 Pages.

Meddour, R., 2011. La méthode phytosociologique sigmatiste. Consulté le 10 avril 2012. Tiré de http://www.tela-botanica.org/page:methode_phytosociologique_sigmatiste.

Mesquita, R.C.G., Ickes, K., Ganade, G., Williamson, B.G., 2001. Alternative successional pathways in the Amazon basin. *J. Ecol.* 89, 528–537.

Morat, P., Jaffré, T., Tronchet, F., Munzinger, J., Pillon, Y., Veillon, J-M., Chalopin, M., 2012. Le référentiel taxonomique FLORICAL et les caractéristiques de la flore vasculaire indigène de la Nouvelle-Calédonie. *Adansonia sér.* 3. 34(2), 177-219.

Munzinger, J., Kurpisz, D., Rigault, F., Dagostini, G., 2008. *Caractérisation taxonomique et patrimoniale des lambeaux forestiers dans le Grand Sud Calédonien, implication pour la gestion et la préservation de ces formations – Rapport de convention IRD / DRN Province Sud N°6024-60/2005*, 74 pages.

Munzinger, J., Morat, P.H., Jaffré, T., Gâteblé, G., Pillon, Y., Tronchet, F., Veillon, J.M., Chalopin, M., 2016. *FLORICAL: Checklist of the vascular indigenous flora of New Caledonia*. vers. 22.IV.2016.

Parrotta, J.A., 1993. Secondary forest regeneration on degraded tropical lands: the role of plantations as "foster ecosystems". in Lieth H, Lohmann M. (Eds.), *Restoration of tropical forest ecosystems*. Kluwer Academic Publishers, The Hague, The Netherlands, pp 63-73.

Parrotta, J., Turnbull, J., Jones, N., 1997. Catalyzing native forest regeneration on degraded tropical lands. *Forest Ecol. Manag.* 99, 1–7.

Pickering, C.M., Mount, A., 2010. Do tourists disperse weed seed? A global review of unintentional humanmediated terrestrial seed dispersal on clothing, vehicles and horses. *J. Sustain. Tour.* 18, 239–56.

Powers, J.S., Haggard, J.P., Fisher, R.F., 1997. The effect of overstory composition on understory woody regeneration and species richness in a 7-year-old plantation in Costa Rica. *Forest Ecol. Manag.* 99: 43–54.

Rehounkova, K., Prach, K., 2010. Life-history traits and habitat preferences of colonizing plant species in long-term spontaneous succession in abandoned gravel-sand pits. *Basic Appl. Ecol.* 11, 45–53.

Sansevero, J.B.B., Prieto, P.V., Moraes, L.F.D., Rodrigues, P.J.P., 2011. Natural regeneration in plantations of native trees in lowland Brazilian Atlantic forest: community structure, diversity, and dispersal syndromes. *Rest. Ecol.* 19, 379–389.

Seabloom, E.W., Williams, J.W., Slayback, D., Stoms, J.H., Dobson, A.P., 2006. Human impacts, plant invasion, and imperiled plant species in California. *Ecology*. 16, 1338–1350.

Thomson, F.J., Moles, A.T., Auld, T.D., Kingsford, R.T., 2011. Seed dispersal distance is more strongly correlated with plant height than with seed mass. *J. Ecol.* 99, 1299–1307.

White, E., Tucker, N., Meyers, N., Wilson, J., 2004. Seed dispersal to revegetated isolated rainforest patches in North Queensland. *Forest Ecol. Manag.* 192, 409–426.

Wunderle, Jr J.M., 1997. The role of animal seed dispersal in accelerating native forest regeneration on degraded tropical lands. *Forest Ecol. Manag.* 99, 223–235.

Zamora, C.O., Montagnini, F., 2007. Seed rain and seed dispersal agents in pure and mixed plantations of native trees and abandoned pastures at La Selva biological station, Costa Rica. *Rest. Ecol.* 15, 453–461.

Zanne, A.E., Chapman, C.A., 2001. Expediting reforestation in tropical grasslands: distance and isolation from seed sources in plantations. *Ecol. Appl.* 11, 1610–1621.

Zongo, C., Ititiaty, Y., Fogliani, B., 2014. Etude sur la dispersion/germination des graines en lien avec la dynamique des écosystèmes de Nouvelle-Calédonie. Rapport final de convention EcoRCEn°1-IAC/Glencore-XSTRATA, 137p. + complément 10p.

4.2. GENETIQUE DES POPULATIONS DE L'ESPECE DE PLANTE MODELE *GYMNOSTOMA DEPLANCHEANUM*

4.2.1. ELEMENTS D'INTRODUCTION ET OBJECTIF DE L'ETUDE

4.2.1.1. Eléments d'introduction

Dans le but d'évaluer et de mieux comprendre les dynamiques d'évolution de la colonisation de l'espace par des plants issus d'espèces plantées et/ou provenant des milieux naturels avoisinants, en continuité avec l'étude sur l'évaluation de niveau plurispécifique du cortège d'espèces colonisatrices (tâche 3.1 ; se référer également à la section 4.1 juste avant), une approche de niveau infra-spécifique est proposée. Elle a pour objet de définir la part en plants recrutés post-plantation attribuable à ces dernières, de celle due à des effets d'entrants. En effet, les populations observées sur sites revégétalisés, ne sont pas nécessairement issues de la simple réussite des plantations établies. Différentes dynamiques colonisatrices, indicatrices de l'état des sites, peuvent se mettre en place avec le temps. C'est ainsi que des individus recrutés hors plantations, par exemple par dissémination de semences provenant de zones naturelles alentours, ou par germination de graines préexistantes dans le sol, ou encore par la reproduction d'individus plantés, ou non, avec des flux de pollens entrants, peuvent apparaître dans les effectifs de ces populations constatées sur des sites initialement revégétalisés.

L'identification de l'origine locale, ou exogène, d'une plante passe par l'élaboration d'un outil permettant de reconnaître, au sein d'une population reconstruite, les différents phyla familiaux qui y existent. Ce qui demande dans un premier temps de caractériser la composition de la variabilité génétique qui la compose. Puis, d'effectuer des rapprochements en fonction des affinités de profils génétiques observées entre descendances et plantes reproductrices du site. L'établissement des profils génétiques des plants introduits, permettra de reconnaître parmi les juvéniles étudiés ceux dont ils sont les parents et ainsi d'évaluer leur potentiel reproducteur au regard de celui des plants matures originaires du site.

La caractérisation de la variabilité génétique au niveau intra-spécifique passe par le développement de marqueurs moléculaires polymorphes spécifiques. À ces fins, il a été convenu que des locus microsatellites, usuellement choisis pour ce type d'étude (Barthe et al., 2012 ; Verhaegen et al., 2013), seraient définis pour l'espèce modèle choisie de cette étude.

Parmi les plantes couramment utilisées en restauration, l'espèce *Gymnostoma deplancheanum* (Casuarinaceae) est relativement bien maîtrisée techniquement et celle-ci est capable de régénérer naturellement de façon abondante. De plus, cette espèce, endémique au territoire, constitue naturellement des peuplements importants en maquis miniers sur sols cuirassés. Dans la zone d'étude de Goro (Figure 61 ; Tableau 13), cette espèce est largement représentée et constitue des formations qu'elle domine. Elle a été plantée sur le site de l'ancienne pépinière (zone A) et y régénère spontanément (Figure 62). C'est pourquoi, *G. deplancheanum* a été retenue comme plante modèle pour l'étude.



Figure 61 : Localisation de la zone d'étude relative aux travaux sur la biologie des populations de *Gymnostoma deplancheanum* (Casuarinaceae), centrée sur le lieu dénommé « Ancienne pépinière » (zone A). Cette zone est surlignée par un encadré rouge.

Tableau 13 : Informations générales sur les trois sites revégétalisés (A1, A2 et A3) de la zone A. NB : le site A1 n'a subi aucun traitement *a contrario* des sites A2 et A3.

	Parcelle	A1	A2	A3
Milieu environnant dominant	Nature de l'écosystème environnant dominant	Maquis dense	Maquis paraforestier	Maquis dense
	Hauteur canopée (m)	6	8	6
Milieu naturel le plus proche de la plantation	Nature de l'écosystème environnant	Maquis dense	Maquis dense	Maquis dense
	Distance au centroïde de la parcelle (m)	15	16	26
	Distance au plus proche de la plantation (bord à bord)	2	0	10
Autres infos	Taux mortalité (%)	7,8	8,1	3,6
	Densité observée en tiges plantées au m ²	0,6	0,4	0,5



Figure 62 : Illustration de la forte capacité de recrutement de *Gymnostoma deplancheanum* (Casuarinaceae) sur la zone A du site Goro.

4.2.1.2. Objectif de l'étude

Il s'agit, dans cette partie du travail, d'évaluer, à un niveau infra-spécifique, la part de régénération incombant aux « plantations starter » de celle due aux intrants naturels, et/ou semis préexistants sur site. Pour se faire, il convient, pour l'espèce étudiée, d'esquisser, à partir de l'ensemble des individus présents sur sites plantés, comme pour ceux des alentours naturels, les pourtours des pseudo-cohortes génétiques (groupes de similitudes génétiques les plus cohérents) caractérisant des ensembles d'individus concernés par un même événement (espace-temps) reproductif. De la comparaison de ces ensembles, il sera possible de déduire une structuration mettant en évidence les relations de parenté qui pourraient les lier, et donc définir les parts dues, dans la régénération observée, au préexistant, de celles dues aux entrants.

Les distances de pollinisation et de dissémination de graines seront également abordées.

4.2.2. MATERIEL ET METHODES EN QUELQUES MOTS

Contraint par le temps et les moyens, deux espèces modèles au maximum pouvaient être choisies en fonction de critères tels que (1) espèces couramment utilisées en revégétalisation et (2) présentes naturellement sur les sites qui seront sélectionnés. Nous n'en avons retenu qu'une seule dans notre étude, *Gymnostoma deplancheanum* (Encadré 7), pour laquelle :

- un géo-référencement des individus et une collecte d'informations les caractérisant ont été opérés sur les sites revégétalisés comme au niveau de leurs alentours proches (action commune avec les inventaires floristiques conduits par ailleurs ; voir section 4.1) ;
- des échantillonnages représentatifs des populations observées ont été conduits et conservés au laboratoire (jeunes feuilles) en attente d'être analysés. Pour les individus plantés, l'échantillonnage a été effectué dans un carré de 1m² centré par rapport au pied de l'individu planté et aligné sur les rangs et lignes du site (Figure 63). En milieu natifs, des juvéniles ont été échantillonnés aux pieds de chaque reproducteur référencé et échantillonné.

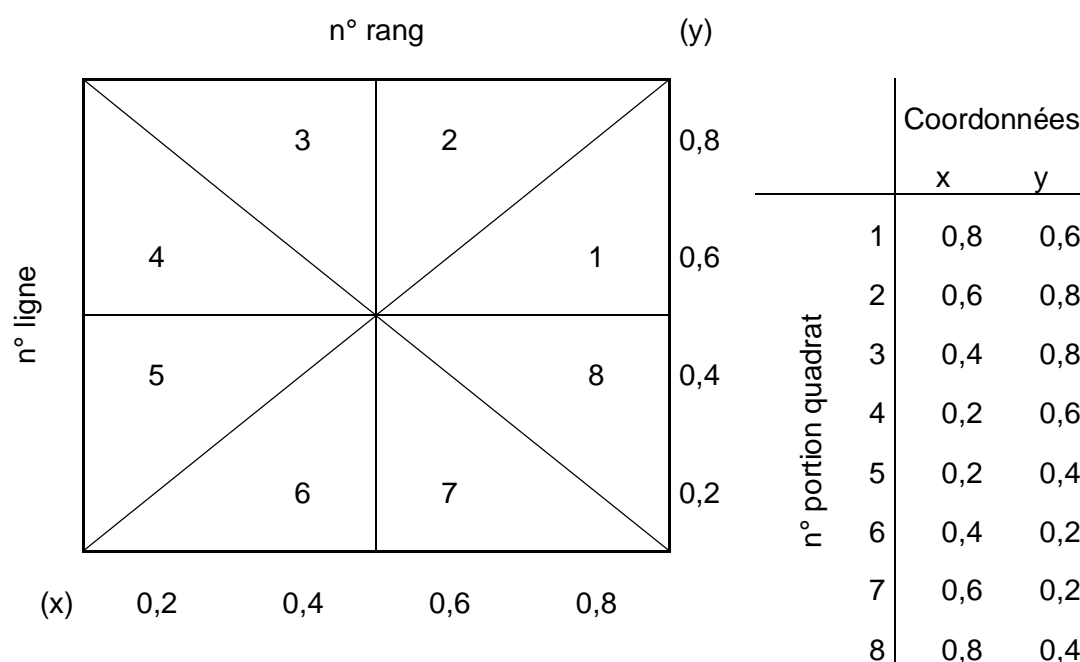


Figure 63 : Définition des coordonnées pour les relevés par quadrat au niveau des sites revégétalisés. Pour chaque quadrat, toutes les coordonnées ont été relevées de la même façon.

L'identification de l'échantillon est effectuée de la manière suivante : N° « site », « A » (si planté) ou « J » (si juvéniles), n° « rang », n° « ligne » pour les individus plantés, auxquels se rajoutent le n° « portion quadrat », et n° « juvénile dans cette portion de quadrat » ; exemple 1J020371 pour le site A1, juvénile, rang 2, ligne 3 portion de quadrat 7 et n° d'individu 1.

L'analyse infra-spécifique de la diversité, implique la caractérisation génétique des individus échantillonnés. Les marqueurs choisis sont des microsatellites, particulièrement adaptés à ce type d'étude du fait de leur polymorphisme élevé, de leur héritabilité biparentale pour ceux issus du génome nucléaire, et de leur caractère neutre vis-à-vis de la sélection naturelle. Leur utilisation est conditionnée à la mise en œuvre de différentes techniques de laboratoire telles que : l'amplification *in vitro* de fragments d'ADN (PCR) et l'électrophorèse d'ADN (gel d'agarose, migration et lecture automatisées sur genotyper, etc.). Des étapes préliminaires telles que :

- l'identification de locus microsatellites,
- la définition d'amorces qui leurs sont spécifiques en vue de leur amplification ultérieure par PCR,
- l'évaluation de leur variabilité,

sont nécessaires à cette première phase de "calibration de l'outil". N'ont été utilisés dans la suite de l'étude que les locus les plus variables afin d'optimiser les résultats à venir.

À partir des cartes génétiques individuelles obtenues pour chacun des individus génotypés, l'identification de groupes génétiques cohérents (partageant un même pool d'allèles pour des locus choisis) a été fait et l'analyse comparative des ensembles ainsi identifiés conduite (aspect qualitatif et quantitatif des allèles partagés).

Encadré 7 : Présentation de l'espèce modèle retenue pour l'étude

Gymnostoma deplancheanum : L'espèce est dioïque, fixatrice d'azote grâce à la symbiose avec l'actinomycète *Frankia*. Elle peut atteindre une quinzaine de mètres de hauteur. Les inflorescences terminales sont portées par des rameaux courts : les mâles en chatons, les femelles capituliformes. Les fleurs sont minuscules et unisexuées. Les fleurs mâles sont verticillées à chaque nœud du chaton. Les



fleurs femelles sont bicarpellées dont un est généralement avortée, avec deux ovules par carpelle. Le fruit est une samare de petite taille, protégé par les bractéoles accrescentes et lignifiées qui se séparent à maturité, donnant une apparence de capsule déhiscente. La floraison intervient de mars à septembre suivant les sites, et les fruits atteignent la maturité de mi-décembre à mi-février.

La photo ci-dessus représente une population de *G. deplancheanum*.



Pied mâle en fleurs et chatons mâles à différents stades de formation.



Pied femelle en fruits, fleurs et cônes femelles.

4.2.3. RESULTATS

Élément de langage : dans cette étude un distinguo linguistique est fait entre les juvéniles de l'année, définis comme recrûs et pour lesquels il est alors question de recrutement (annuel), et ceux qui se sont installés de manière plus durable, les plantules, qui sont, elles, les vraies actrices de la restauration par régénération.

4.2.3.1. Observations de terrain

4.2.3.1.1. Environnement à proximité des sites de la zone de l'Ancienne pépinière (A).

Deux des sites, A1 et surtout A2, sont bordés de lisières para-forestières avec une dominance en adultes natifs de *G. deplancheanum*, alors que A3 se trouve plus isolé en milieu découvert (Figure 64).



Figure 64 : Localisation des sites revégétalisés A1 (encadré jaune), A2 (encadré rouge) et A3 (encadré vert) sur la zone de l'Ancienne pépinière.

4.2.3.1.2. Effectifs en *G. deplancheanum* plantés et leur croissance

Des observations faites sur le terrain, il apparaît que si les sites A1 et A3 sont comparables en effectif de *G. deplancheanum* plantés (respectivement 69 et 63), le site A2 admet un quart à un tiers d'effectifs en plus pour cette même espèce (93). Il apparaît également qu'une grande disparité existe entre les tailles (hauteurs) actuelles des individus plantés ($0,3\text{m} < x < 4\text{m}$), A2 comptant dans ses effectifs les individus les plus grands et en proportion plus importante aussi (Annexe 9 ; Figure 65 ; Tableau 14). Bien que plantés sur l'ensemble de la zone A durant la même période de temps, les plants introduits pourraient ne pas être du même âge et/ou de la même origine géographique (durée d'élevage en pépinière, différences génétiques). Il se peut également que les caractéristiques sols, cas de A2 recouverte avec de la latérite rouge connue pour être plus nutritive que la latérite jaune, ou environnement immédiat, influent sur la croissance des plants. De même, aucune information sur l'inoculation éventuelle des plants avec du *Frankia* durant la phase de pépinière n'existe et sur le terrain il n'a pas été possible de trouver systématiquement des nodules de *Frankia* sur les racines des individus plantés.

Les différences dans les hauteurs des *G. deplancheanum* plantés sur le site A1 apparaissent aussi organisées en fonction de la proximité aux lisières limitrophes ce qui ne se retrouve pas au niveau des deux autres sites (Figure 66).



Figure 65 : Différences entre les tailles des individus sur le site A2 (à gauche) et A1 (à droite).

Tableau 14 : Répartition en classe de hauteur par site.

Classes de hauteur	A1	A2	A3
<1m	53%	6%	15%
$1\text{m} \leq x < 2\text{m}$	37%	40%	68%
$\leq 2\text{m}$	7%	54%	18%

Dans le tableau ci-dessus, il apparaît que plus de la moitié des effectifs sont compris dans la classe des moins d'un mètre de hauteur pour le site A1, compris entre 1 et 2

mètres sur A3, et dépassent les 2m sur A2. Des facteurs d'origines génétique ou environnemental pourraient en être les causes. Des expérimentations dans ce sens restent à conduire.

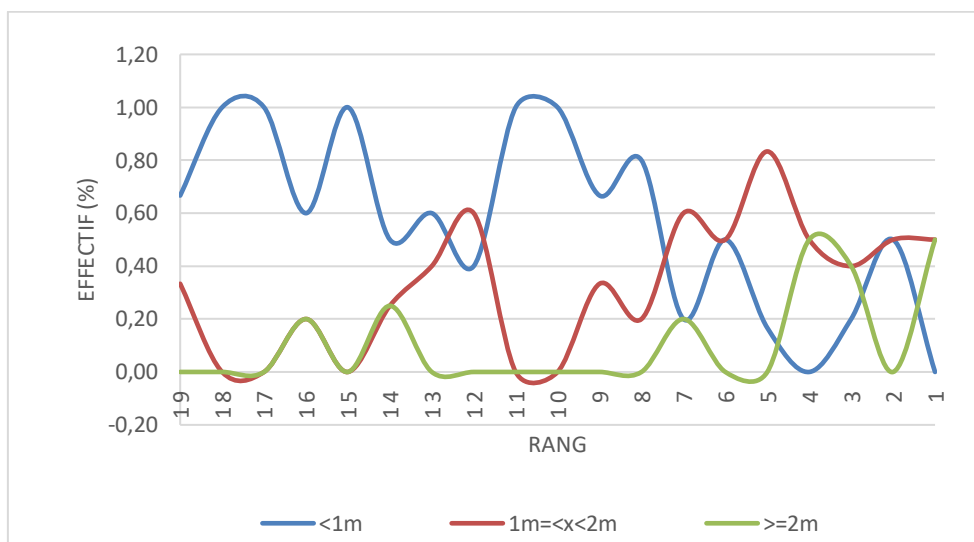


Figure 66 : Distribution des tailles en fonction de leur positionnement sur les rangs pour le site A1.

Les effectifs en individus de taille $\leq 1\text{m}$ augmentent en fonction de leur proximité à l'ouverture.

4.2.3.1.3. Phénologie et maturité sexuelle de l'espèce

Du fait de la caractéristique dioïque de l'espèce, à l'occasion de notre échantillonnage, des relevés des tailles et du sexe des pieds plantés ont aussi été faits (Annexe 9 ; Tableau 15). L'assignement à un des deux sexes, mâle ou femelle, pour chaque individu étudié a été faite sur la base du relevé de présence d'organes sexuels spécifiques.

À noter que le site A3 accuse un déficit en juvéniles, avec un effectif moyen par quadrat de 1,4 par rapport aux deux autres sites A1 et A2 dont les moyennes par quadrat sont respectivement de 8,3 et 11,6 (Figures 67). Le site A1, quant à lui, semble apparaître un peu mieux doté par rapport à A2, et ce malgré des effectifs en reproducteurs potentiels identifiés moitié moindre. Les effectifs de *G. deplancheanum* plantés qui n'ont pu, durant toute la période de l'étude, être déterminés au niveau du genre, malgré les hauteurs imposantes que peuvent atteindre certains d'entre eux, sont équivalents sur les trois sites. Cette stérilité apparente, surtout en ce qui concerne les individus de grande taille, parmi les plus grandes ($\approx 4\text{m}$, Figure 68), nécessiterait d'approfondir la question à l'occasion d'une future étude.


Tableau 15 : Extrait des relevés observés sur le terrain. L'encadré en gras marque les effectifs concernant les individus de *G. deplancheanum* plantés.

Effectifs	A1	A2	A3	A extérieur	Autres sites	Totaux
Mâles	16	30	17	117	20	200
Femelles	16	26	11	117	26	196
ND	37	37	35			109
Juveniles	264	214	52	79	17	626
Totaux	333	307	115	313	63	1131

ND : individu planté dont le genre est non déterminé.

Figure 67 : Relevés par site.

Lisière																				
A1	Rang1	Rang 2	Rang 3	Rang 4	Rang 5	Rang 6	Rang 7	Rang 8	Rang 9	Rang 10	Rang 11	Rang 12	Rang 13	Rang 14	Rang 15	Rang 16	Rang 17	Rang 18	Rang 19	Ouverture
Ligne 13							Ni, 46	52	17		M, 20	M, 10		2	1	Ni, 1		Ni, 2	2	
Ligne 12	14	21	25	32	Ni, 13	M, 43	Ni, 85	81	Ni, 90		23	4	F, 3	F, 5	7	3	4	1	1	
Ligne 11	9	15	F, 15	15	Ni, 3	8	12	F, 67	85	mort	5	Ni, 9	4	8	3	3	1		Ni	
Ligne 10	M, 14	12	9	6	3	2	Ni, 2	95	F, 85		2	3	3	2	2	M, 1	1			
Ligne 9	4	Ni, 10	23	F, 16	5	Ni, 10	1	28	17		2	1	Ni		2	1	2	1	1	
Ligne 8	11	16	F, 141	47	M, 15	6	5	9	9				4	7	3	5	1	1		
Ligne 7	2	F, 33	42	30	5	3	F, 9	M, 4	5		Ni		Ni	2	1	1		Ni, 1		
Ligne 6	3	9	F, 3	9	mort, 9	5	2	1	6			Ni, 5		F, 31		Ni		2	Ni	
Ligne 5	6	4	1	M, 11	6	M, 5	4	Ni, 4	3		Ni			2	3	3	M	Ni, 2	3	
Ligne 4	Ni, 9	9	9	7	Ni, 1	Ni, 4	4	M, 5	Ni, 3	Ni		Ni, 1	F, 1	M, 2	5	Ni, 2	2		F, 2	
Ligne 3	19	6	M, 8	3	Ni, 3	6	F, 8	1	2			1	1	1	Ni, 4	2		2		
Ligne 2	9	8	3	1	2	5	3	1	1	Ni		M, 1	2	1	2	1	Ni	1		
Ligne 1	Ni, 12	10	M, 7	5	Ni, 13	8	1	Ni, 6	4			1	F, 3	F, 1	2	M, 2		Ni, 2		
Piste																				
Lisière																				



 : femelle native en lisière

NI : *G. deplancheanum* planté non identifié dans son genre

NH : individu qui n'a pas atteint la taille requise pour pouvoir être qualifié de reproducteur potentiel

F : pied femelle planté

M : pied mâle

 : individu mort avant échantillonnage ;  : individu mort après échantillonnage

Les chiffres indiquent le nombre de juvéniles par quadrat au moment du relevé, 2 047 sont comptés à l'échelle des 247 quadrats du site, soit une moyenne de 8,3 juvénile par quadrat. Leur répartition semble concorder avec la présence de femelles plantées et/ou femelles natives à proximité.

Classes de hauteur de l'individu planté : quadrat sans bordure <1m, 1m<quadrat à bordure simple <2m, quadrat à bordure en gras >2m

À noter que la femelle 1A0308F (site A1, rang 03, ligne 08, 2m15 de hauteur, cf. annexe relevés) compte parmi les plus grands pieds plantés du site, ce qui peut expliquer la forte présence de juvéniles dans son environnement direct.

Suite Figure 67

Maquis paraforestier																																		
Ouverture	A2	Rang1	Rang2	Rang3	Rang4	Rang5	Rang6	Rang7	Rang8	Rang9	Rang10	Rang11	Rang12	Rang13	Rang14	Rang15	Rang16	Rang17	Rang18	Rang19	Rang20	Rang21	Rang22	Rang23	Rang24	Rang25	Rang26	Rang27	Rang28	Rang29	Rang30	Rang31	Rang32	Rang33
	Ligne 13																																	3
	Ligne 12	47	67	NI, 78	50		35	174	74	17	F, 6	7	4	9	2	3	M, 3	3	2	M, 8	1	3	3	1	3	M	2		NI, 1			1	F, 3	1
	Ligne 11	M, 51	18	11	16		NI, 23	NI, 29	15	4	8	F, 3	6	12	6	8	F, 5	4	2	M, 3		3	M, 5	1		4		3			1	1	1	NI, 2
	Ligne 10	18	11	NI, 24	17		14	7		2	2	3	6	F, 9	8	3	7	8	5	F, 14	1	NI	2	2	F, 1	1	NI, 2		1		NI, 1	NI, 2	2	1
	Ligne 9	7	12	13	NI, 3	M, 20	1	11	4	3	3	4	NI, 2	3	7	2	NI, 4	3	NI, 1	4	1	1	NI	1	1	1	3	NI, 1	F			2	M, 5	9
	Ligne 8	F, 4	6	6	3	11	7	4	5	5	F, 12	3	2	NI, 4	7	6		2	2	NI, 2		1	NI, 4	2	2			1	M, 6		4	2	2	M, 2
	Ligne 7	13	NI, 13	5	6	4	4	4	NI, 2	3	1		4	6	3	M, 3	1	2	4	NI, 3	3	3	2	NI, 1	3	1	M		3		4	2	2	
	Ligne 6	2	6	M, 7	7	NI, 11	1			F, 5		3	4	5	NI, 2	1	2	NI, 2	2	10	18	M, 4	1		1	NI, 4	1	1	1	F, 2	14	M, 6	7	1
	Ligne 5	2	M, 13	4	7	2		2	NI, 1	2	1	NI, 2		1	5		NI, 1	2	NI, 7	21	44	15	3	1	F, 3	3	M, 1	1	6	4		4		NI, 9
	Ligne 4	2	F, 2		1	2	F, 4	1	3	1	M, 3	2		5	F, 100	28	5	M, 13	15	61	52	F, 39	16	2	2	2	4	M, 3	7	39		77	3	16
	Ligne 3	1	1	1	NI	NI, 11	14	F, 1		M		2	NI, 11	29	21	11	11	21	127	F, 342	122	32	2	F, 9	4	9	F, 12	8	30	114	244	mort 49	17	31
	Ligne 2	1		M, 1		1	1	M, 5	1	1	1	12	F, 86	17	1	M, 5	4	12	M, 82	252	104	32	M, 10	4	6	M, 7	3	M, 15	81	97	228	26	2	
	Ligne 1	1	1	NI, 13	F, 41	6	6	F, 3	2	1	1	F, 5	9	NI, 8	3		M, 5	6	9	16	12	M	8		1	2	2	F, 7	29	32		1		5
Ouverture																	Semi-ouverture																	
																	Piste																	

* : 2A2303F et 2A2405F correspondent aux deux seuls individus plantés pour lesquels les génotypes obtenus étaient trop incomplet (deux loci manquants) pour pouvoir être intégrés dans les analyses.

À remarquer que les femelles 2A1903F (3m26) et 2A2104F (3m18) sont parmi les plus grands pieds de *G. deplancheanum* plantés du site, ce qui peut expliquer la forte présence en juvéniles dans cette zone.

Le site admet à l'échelle de ses 429 quadrats un total 4 955 juvéniles au moment du relevé, soit en moyenne 11,6 juvéniles par quadrat.

Suite Figure 67

Ouverture																
A3	Rang1	Rang 2	Rang 3	Rang 4	Rang 5	Rang 6	Rang 7	Rang 8	Rang 9	Rang 10	Rang 11	Rang 12	Rang 13	Rang 14	Rang 15	Rang 16
Ligne 15						NI		1	NI, 1							
Ligne 14	2		NI				1	1				NI	1	2		M, 3
Ligne 13	F	1	1		NI		3	M		2		1			M, 1	3
Ligne 12	1	1	NI	1			F				NI	NI		NI, 1		2
Ligne 11	1									NI		1	3	1	F	4
Ligne 10			F, 1				NI		NI			1		1	2	NI, 6
Ligne 9	NI			NI	M	1	1	M			NI	NI	3	1	F, 4	5
Ligne 8	2	NI	2					1	NI			M, 2	1	F, 13	6	1
Ligne 7	1		NI, 7	M, 1	1		M	1		NI		2	F, 4	6	4	NI, 1
Ligne 6	M		2	1			3	1	1	1	NI, 3		2	2	NI, 15	M, 7
Ligne 5			2	NI		NI, 3	1	NI, 1		1	NI, 1	4	11	2	4	2
Ligne 4	4	5	NI, 3		2	1	M			15	5	3	NI, 2	2	3	NI
Ligne 3	F, 6	2	2		M, 1		1		M	8	5	F	13	2	2	
Ligne 2	5		NI, 2				F, 6		1	9	M, 7		M, 3	1	NI, 2	
Ligne 1	F, 2		2	NI		M	2			M, 3	1				1	NI
Piste																

Le site admet à l'échelle de ses 240 quadrats un total de 326 juvéniles au moment du relevé, soit en moyenne 1,4 juvéniles par quadrat.

La mise en relation de la croissance des plants avec leur état de maturité sexuelle, à partir des relevés de terrain effectués, a permis de définir un stade de maturité sexuelle pour l'espèce qui semble se dessiner pour des classes de croissance admettant a minima des diamètres au collet > à 1,6 cm et/ou tailles en hauteur > 66 cm (Figure 68).

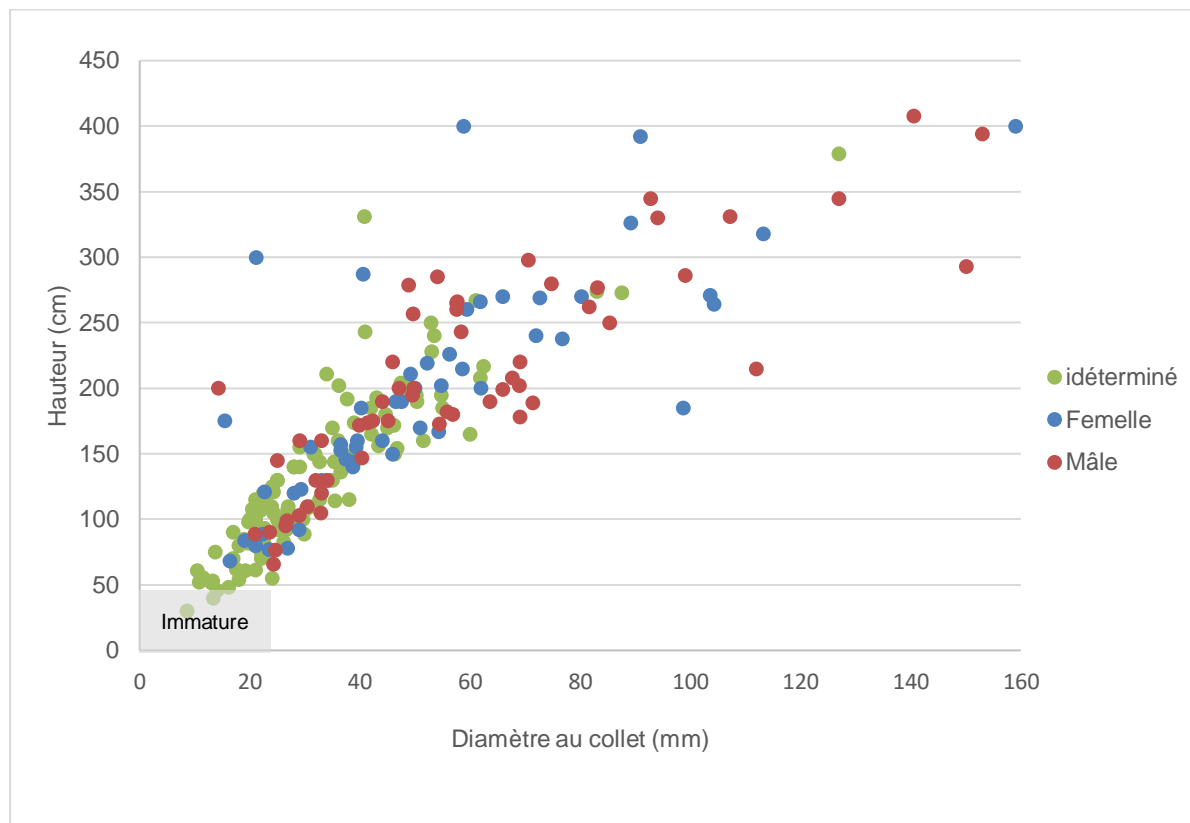


Figure 68 : Relation entre la croissance et la maturité sexuelle.

En complément de l'observation relative à une organisation des hauteurs de plants sur le site A1, il est intéressant de noter que ce dernier se singularise aussi des deux autres en admettant, parmi ses individus plantés les plus petits des plants dont les tailles sont inférieures à celle reconnue comme seuil minimal pour pouvoir être qualifié de sexuellement mature (Annexe 9 ; Figures 67). Un corollaire à cet état de faits est que c'est sous ces couvertures végétales de petites tailles que se comptent les plus faibles densités en juvéniles (Figures 67).

Le suivi annuel de la phénologie, à l'échelle de ces trois sites, a aussi permis de mettre en évidence une floraison et/ou fructification par individu planté inconstante d'une année à l'autre.

4.2.3.1.4. Recrutement annuel - Régénération

En ce qui concerne la production de juvéniles, il apparait que si les recrûs sont abondants chaque année, hors comme intra sites (Figures 67), très peu de plantules subsistent dans le temps (Figure 69).

De fait, cela impacte la dynamique de la régénération pour cette espèce et *in fine* marque une cinétique de la restauration lente dans son volet passif pour les sites concernés. Différents

facteurs peuvent être invoqués pour expliquer cet état. Notamment le déficit en eau durant la période sèche qui se trouve accentué par l'effet de déshydratation des sols soumis aux vents en terrain découvert. Pour preuves, les plantules qui résistent le mieux dans ces conditions sont celles qui se situent en lisière forestière ou sous couvert herbacé dense (Figures 70).



En période post-dissémination des graines et/ou de pré-germination de ces dernières, il n'y a pas de régénération visible au sol (photo du 9 janvier 2019).

Après période de sécheresse (pour preuves les différents cycles annuels passés).



En période de post-germination des graines, présence d'un « tapis » de recrues au sol (photo du 1 février 2019).

Possible régénération en fonction des conditions environnementales.

Figure 69 : Suivi de régénérations de *Gymnostoma deplancheanum*.



Figure 70 : Plantules en lisière (à gauche) ou sous couvert herbacé (à droite) de *Gymnostoma deplancheanum*.

Sur les relevés par site (Figure 67) apparaissent les positionnements des individus de *G. deplancheanum* plantés, leur sexe si identifié, ainsi que les effectifs approximatifs par quadrat des juvéniles observés au moment du relevé. Dans les schémas de la Figure 67, les quadrats sont grisés en fonction de l'importance des effectifs qu'ils contiennent, les plus sombres étant ceux aux effectifs de juvéniles les plus importants. Un nombre élevé de juvéniles atteste de la présence proche d'une ou de femelles reproductrices. Ce ou ces femelles peuvent être d'origine plantée ou native des alentours. Dans le second cas, il faut prendre en compte les environnements immédiats du ou des quadrats concernés pour y trouver la ou les femelles natives susceptibles d'être les mères des juvéniles observés.

D'une manière générale, si les sites A1 et A2 se caractérisent par une distribution en juvéniles qui couvre la presque totalité de leur surface respective, bien qu'hétérogène, le site A3 semble, lui, d'une part, et comme déjà évoqué supra, quasi dépourvu en juvéniles par rapport à ses deux voisins, et d'autre part admettre une distribution fragmentée. La non proximité avec une lisière pour A3 pourrait être un des facteurs explicatifs de ce fait. D'autant plus qu'à proximité immédiate de reproductrices femelles natives pour les sites A1 et A2, les effectifs en juvéniles des quadrats concernés se démarquent significativement par le nombre important de recrûs qu'ils contiennent (Figures 67).

4.2.3.1.5. Échantillonnage des reproducteurs natifs de la zone de l'Ancienne pépinière (A).

Des reproducteurs femelles et mâles ont été échantillonnés tout autour des sites A à hauteur de 117 exemplaires pour chacun des deux sexes (Tableau 15 & Figure 71), ainsi que quelques juvéniles situés dans leur proximité immédiate.

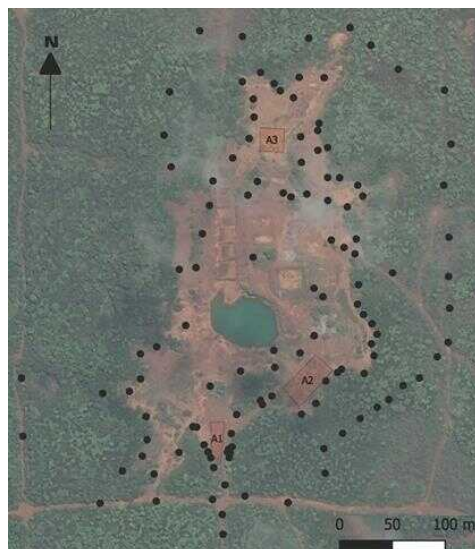
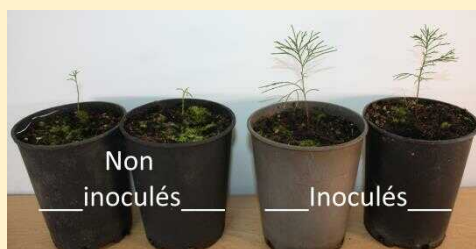


Figure 71 : Échantillonnage des natifs sur la zone de l'Ancienne pépinière (A). Un point marque l'emplacement de deux individus proches échantillonnés, un pied femelle et un pied mâle, soit deux individus pour un seul point indiqué.

Finally, what should we retain from the observations made on the ground ?

Adaptation and growth

The heterogeneity observed in the sizes of individuals of *Gymnostoma deplancheanum* planted, from 30 cm to 4.08 m, highlights the need to better know the characteristics proper to the genetic resources used, the history of the seedlings obtained in the nursery, as well as the environmental conditions that can influence their growth (*provenances, ages of seeds and of the plantation, density of plantation, effect of shade, symbiosis with Frankia, soil conditions and organic matter content of the soil, etc.*).



Essai en pépinière d'inoculation en Frankia : comparatif de croissance des plantules au bout de 5 mois.

Annual recruitments and regeneration

- The annual production in fruits/seeds per reproducer is revealed to be inconstant. In order to better grasp the tenants and aboutissants of this fact, it is necessary to deepen our knowledge of the phenology of the species.
- Due to the dioecious status of the species, it might be possible to favor the annual recruitment in juveniles by the choice of a sex ratio optimized at the plantation. This is conditioned by the development of tools capable of determining the sex of the plants before plantation.
- The observations made regarding the spatial distributions in juveniles observed on the planted sites reveal a heterogeneous character in these last ones. A uniform distribution of female plants at the scale of the surface to be restored should allow correcting this fact. This is also conditioned by the possibility of being able to dispose of sex identification tools.
- The important constatation made regarding the native populations as well in the recruitment as in the natural regeneration invites to accoster geographically the plantations as close as possible to these. In this sense, a better apprehension of the distances of pollination and of dissemination of seeds for the species is desirable.
- In open terrain, the great majority of juveniles is characterized by a ephemeral existence. Submitted notably to the winds and to the dehydration, few are those who survive more than one year. The accompaniment of plantations, and of their descendances, is revealed to be indispensable for the success of the operations of revegetation. To these ends, it appears desirable to define the conditions of this accompaniment (irrigation, fertilization, physical protections by vegetative cover of herbaceous type, accumulation of litter, or windbreak, ...).

Sexual maturity

A minimum size, ≥ 66 cm, seems to mark the sexual maturity of the species. However, other factors, not yet determined, must also intervene since it has been constatated that a little less than half (48%) of the individuals planted were apparently sterile during the duration of the study. It is necessary to deepen the phenology and the physiology of the reproduction for this species in order to be able to improve the yield of the plantations in the future.

4.2.3.2. Génomique et analyses génétiques

4.2.3.2.1. Recherche de marqueurs microsatellites

Dès le début du projet, à partir d'un lot très limité d'individus (Tableau 16) dans le but de conduire le génotypage, la recherche de motifs microsatellites a été effectuée dans les laboratoires du Grand plateau technique régional de génotypage de l'UMR AGAP (Cirad – Inra – Montpellier SupAgro ; <http://www.gptr-lrgenotypage.com/index.html>). Les résultats acquis font état d'une banque de 15 569 locus identifiés admettant des motifs di ou tri-mer répétés (exemples : ACACAC..., ATGATGATG..., ...).

Tableau 16 : Échantillonnage pour la recherche des motifs microsatellites.

Lieu	Date	Échantillons	Relevés GPS	
			Latitude	Longitude
Mont Dzumac	08/03/2016	1	22.029464° S	166.446377° E
		2	22.030469° S	166.449093° E
Plateau de Goro	02/03/2016	1	22.27001 ° S	166.96708 ° E
		2	22.27041 ° S	166.96638 ° E

4.2.3.2.2. Choix et tests de variabilité pour les marqueurs identifiés

À partir de la banque des 15.569 locus fournis par AGAP-Cirad, nous avons, au sein des laboratoires de la Plateforme du vivant de la Nouvelle-Calédonie (PFV, centre IRD, Nouméa), dans un premier temps, choisi une vingtaine de locus relativement à leur architecture homogène (type de di ou tri-mer indemne de séquence intercalaire non répétée) et taille (nombre conséquent de répétitions du motif) pour effectuer les premiers tests de variabilité.

Après avoir effectué les mises au points nécessaires à l'amplification par PCR pour les différents locus à étudier, et en fonction des résultats acquis à partir d'un sous-échantillonnage réduit de 2 mâles et 2 femelles pour chacune des 2 sous-populations de *G. deplancheanum*, site A1 et extérieurs aux sites plantés de la zone A, 9 d'entre eux ont été retenus pour la suite de l'analyse (Tableau 17). Ce dernier choix a été effectué en raison de la lisibilité des profils génétiques obtenus et pour l'expression de la variabilité qu'ils offraient.

Tableau 17 : les 9 loci retenus (à l'occasion de ces premiers tests, tous les génotypes obtenus se sont révélés être différents les uns des autres).

Nom	Pseudonyme	Motif et nombre de répétition observée lors de la mise au point
Gd_111_R	111	(TCC) ₁₁
Gd_4216_R	4216	(TC) ₁₀
Gd_498_R	498	(TCT) ₁₅
Gd_962_R	962	(TTC) ₁₂
Gd_4223_R	4223	(CT) ₁₀
Gd_4225_R	4225	(AG) ₂₅
Gd_4228_R	4228	(AG) ₁₆
Gd_472b_R	472b	(CT) ₂₅
Gd_767_R	767	(GA) ₁₅

4.2.3.2.3. Analyse des diversités génétiques et richesses alléliques relevées pour les populations en présence.

Le génotypage des échantillons récoltés sur le terrain a été fait à partir des 9 loci retenus. Par population étudiée, un récapitulatif en effectifs est présenté ci-dessous (Tableau 18).

Tableau 18 : Effectifs génotypés par genre, stade de maturité et population.

Effectifs	A1	A2	A3	A extérieur	Autres sites	Totaux
Mâles	16	30	17	117	20	200
génotypés	16	30	17	102	19	184
Femelles	16	26	11	117	26	196
génotypés	16	24	11	114	23	188
ND	37	37	35			109
génotypés	37	37	35			109
Juvéniles	264	214	52	79	17	626
génotypés	220	204	28	77	10	539
Totaux	333	307	115	313	63	1131
génotypés	289	295	91	293	52	1020

Apparaissent en grisé les chiffres inchangés par rapport au tableau précédent présentant les effectifs observés sur le terrain, et en noire ceux relatifs aux génotypages effectués à partir des neuf loci retenus dans cette étude.

ND : individu planté dont le genre est non déterminé.

L'encadré gras marque les chiffres relatifs aux individus plantés.

La lecture des électrophorégrammes obtenus en génotypage a permis l'identification de 1.020 profils génétiques tous sites confondus, dont un peu plus de la moitié sont issus de juvéniles.

En ce qui concerne les individus plantés, seuls les génotypes de deux femelles du site A2 n'ont pu être obtenus pour des raisons techniques (pannes répétées et non résolues ayant entraîné l'arrêt du génotypage au laboratoire de la PFV). Il en est de même pour la quasi-moitié des juvéniles échantillonnés sur le site A3.

À noter que les génotypes résolus pour les individus reproducteurs natifs de la zone A représentent des effectifs (216) comparables à ceux de l'ensemble des individus plantés (223).

Tous les individus génotypés se révèlent être uniques de par leur profil génétique et donc tous différenciables les uns des autres à l'exception de deux juvéniles du site A2 que l'on peut considérer comme jumeaux aux regards des résultats acquis, 2A191051 et 2A181021. À noter qu'ils se situent au niveau d'une même ligne, la 10, sur deux rangs adjacents le 18 et le 19.

Les richesses alléliques par locus liées aux différents groupes de population à considérer sont présentées dans les tableaux récapitulatifs (Tableau 19 ; Annexe 10). À la lecture de ces tableaux récapitulatifs, il apparaît clairement que certains loci admettent une diversité allélique plus importante que d'autres, comme les loci 4228, 472b, ou encore 767, ce qui normalement devrait leur conférer un caractère informatif de poids sur les niveaux de diversité et leur distribution. Par ailleurs, en comparant les richesses alléliques entre elles, parmi les populations plantées, natives, ou de juvéniles, un classement s'affiche. C'est ainsi que les juvéniles, avec, il est vrai, un effectif double par rapport aux deux autres populations, apparaissent dotés d'une plus grande richesse allélique (141), suivent la population d'individus plantés (133) et en dernier celle des natifs (129) qui peut cependant être considérée comme quasi équivalente à la précédente. Le fait que les juvéniles drainent la plus grande diversité allélique pouvait être attendu. Ils sont en effet les fruits de la reproduction d'individus soit issue d'une seule des populations en présences, soit du mixage entre les adultes plantés et natifs du site. Site qui admet assurément plus de diversité chez les natifs que celle captée dans les génotypes effectués puisque réduit à l'image des seuls échantillons réalisés.

Tableau 19 : Liste des allèles par locus toutes populations confondues et richesses alléliques par groupe populationnel étudié.

Locus	111	4216	498	962	4223	4225	4228	472b	767	totaux
Taille du motif	M3	M2	M3	M3	M2	M2	M2	M2	M2	
	109	239	121	304	299	256	279	126	207	
	112	241	127	328	301	260	283	128	211	
	115	243	130	337	303	262	285	134	213	
	118	245	133	340	305	264	287	138	217	
	121	247	136	343	307	266	289	140	219	
	124	249	139	346	309	268	291	142	221	
	127	251	142	349	311	270	293	144	223	
	130	257	145	352	313	272	295	146	225	
	133		148	355		274	297	148	227	
			151	358		276	299	150	229	
			154	361		278	301	152	231	
			163	367		280	303	154	233	
			166			282	305	156	235	
			175			284	307	158	237	
						286	309	160	239	
						288	311	162	241	
						290	313	164	243	
						292	315	166	245	
						294	317	168	247	
						296	319	170	249	
							321	172	251	
							323	174	253	
							325	176	255	
							327	178	257	
							329	180	259	
							331	182	341	
							333	188		
							335			
							339			
							341			
							343			
							345			
							347			
							349			
Allèles										
Richesse allélique totale	9	8	14	12	8	20	35	27	26	159
Richesse allélique totale sur la zone A	9	8	11	12	8	19	34	27	23	151
Richesse allélique plantés sur A	7	6	10	10	7	17	31	23	21	133
Richesse allélique adultes natifs A	8	7	9	7	6	15	31	25	21	129
Richesse allélique juvéniles de A	8	6	9	11	8	19	32	26	22	141
Allèles propres aux « non plantés »	2	2	4	2	1	3	3	4	5	26

La zone A admet une richesse allélique (151) représentant 95% de la richesse allélique total (159, tous sites confondus) pour 95% des effectifs génotypés ((1020-52) / 1020). Il n'y aurait que 8 (=159-151) allèles propres aux individus issus de sites éloignés (non A). Se sont aussi donc 8 allèles que l'on ne retrouve pas dans la population de plantés sur A. En ne considérant

que la zone A, d'autres allèles sont absents des génotypes obtenus à partir de la population des individus plantés sur les sites A1, A2, et A3. Ils sont donc eux aussi caractéristiques des populations de « non plantés » tous stades de croissance confondus (Tableau 20 ; Annexe 10). D'une manière générale, les allèles propres se révèlent être des outils très utiles dans la caractérisation des populations comme dans les études de descendance-filiation.

Au total, vingt-six allèles, répartis sur les neufs locus étudiés, se révèlent être des marqueurs pour des groupes populationnels de « non plantés ». D'autres allèles semblent également caractériser un ou des groupes d'individus plantés sur les sous-parcelle A1, A2, ou A3 (Annexe 10) mais rien ne prouve qu'ils ne soient effectivement pas présents sur la zone A du fait de l'échantillonnage restreint qui y a été conduit et ne seront donc pas retenus comme allèles propres.

Tableau 20 : Allèles propres aux « non plantés ».

Population(s) d'observation	Allèle	Locus
Toutes excepté plantée	124	111
Juvenile sur A	133	
Reproducteurs natifs de la zone A	239	4216
	257	
Juveniles et natifs zone A	166	498
Sites éloignés (non A)	133	
	154	
	175	
Juveniles zone A	304	962
	328	
Juveniles et natifs zone A	309	4223
Sites éloignés (non A)	260	4225
Juveniles Zone A	264	
Juveniles zone A et sites éloignés	266	
Sites éloignés (non A)	287	4228
Juveniles et natifs zone A	343	
	349	
Toutes excepté plantée	150	472b
	178	
	182	
Juveniles et natifs zone A	188	767
Juveniles zone A et sites éloignés	211	
Juveniles et natifs zone A	219	
Sites éloignés (non A)	213	
	217	
	221	

4.2.3.2.4. Analyse génétique à partir des données de la zone A (logiciel GenAlEx ; Peakall & Smouse, 2012)

- Nombre de locus co-dominants : 9
- Nombre d'individus total : 968 admettant au maximum 1 locus manquant sur les 9 retenus

- Nombre de populations considérées avec leur effectif respectif : 5 (69 plantés A1, 91 plantés A2, 63 plantés A3, 216 adultes extérieurs à la zone A, 529 juvéniles de la zone A)

À partir des génotypes obtenus, le calcul des fréquences alléliques a été opéré. Les résultats acquis par population sont présentés dans l'Annexe 11, et la Figure 72 infra.

À la lecture du tableau et des histogrammes de fréquences alléliques par locus, il apparaît que certains allèles puissent être dominants pour un locus donné au sein d'une population. C'est par exemple le cas pour l'allèle 247 du locus 4216 qui est très représenté dans les populations étudiées, et ce plus particulièrement pour la population de plantés sur A3 avec plus de 91 % de représentativité. Cette prédominance implique, de fait, des fréquences faibles pour les autres allèles. À contrario, d'autres loci sont marqués par un poids en présence quasi équivalent pour chacun de leurs allèles, soit une répartition lissée des fréquences alléliques, comme avec le locus 4228 par exemple (Figures 72 & 73). Dans ce dernier cas, par le jeu des combinaisons de paires d'allèles possibles, l'expression de la diversité se trouve mieux répartie entre les individus étudiés.

Par ailleurs, la comparaison des signatures de distribution des fréquences alléliques pour un ou plusieurs loci choisis entre les populations étudiées permet également de mettre en évidence des différences. Pour exemple, la comparaison des signatures alléliques relatives aux trois populations d'individus plantés sur la zone A qui met en exergue des singularités propres à chacune de ces populations (Figures 72 & 73). Ce constat incite à penser que les plantations n'ont pas été faites à partir de lots homogénéisés de semences ce qui conforte d'autres résultats déjà présentés au chapitre « observations de terrain ».

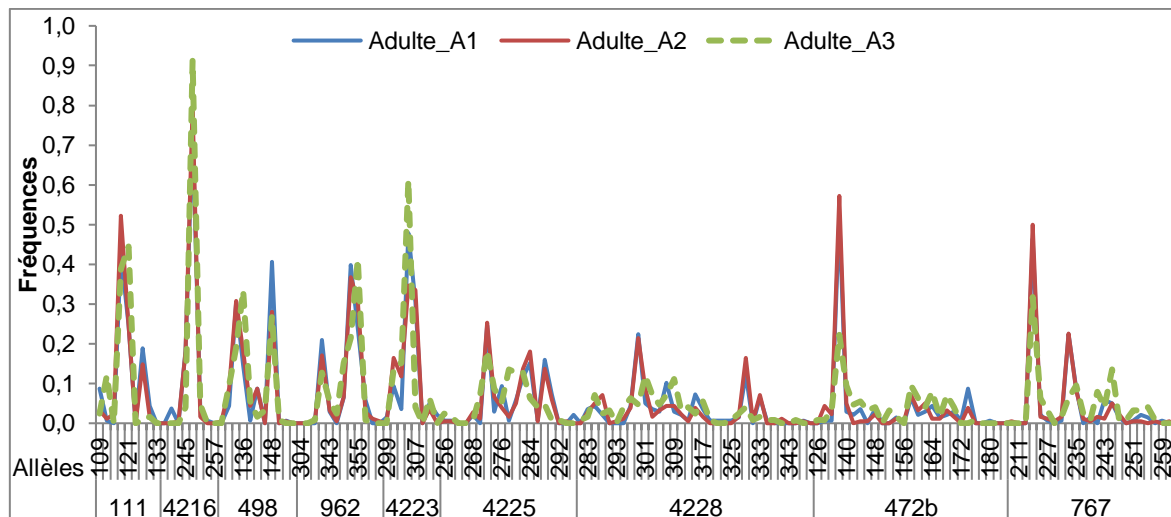


Figure 72 : Fréquences alléliques par locus des plantés sur A (exemples de signatures alléliques). La représentation en courbes a été choisie ici pour mieux visualiser l'ensemble et non pas pour donner une idée de continuité dans les données ce qui serait erroné.

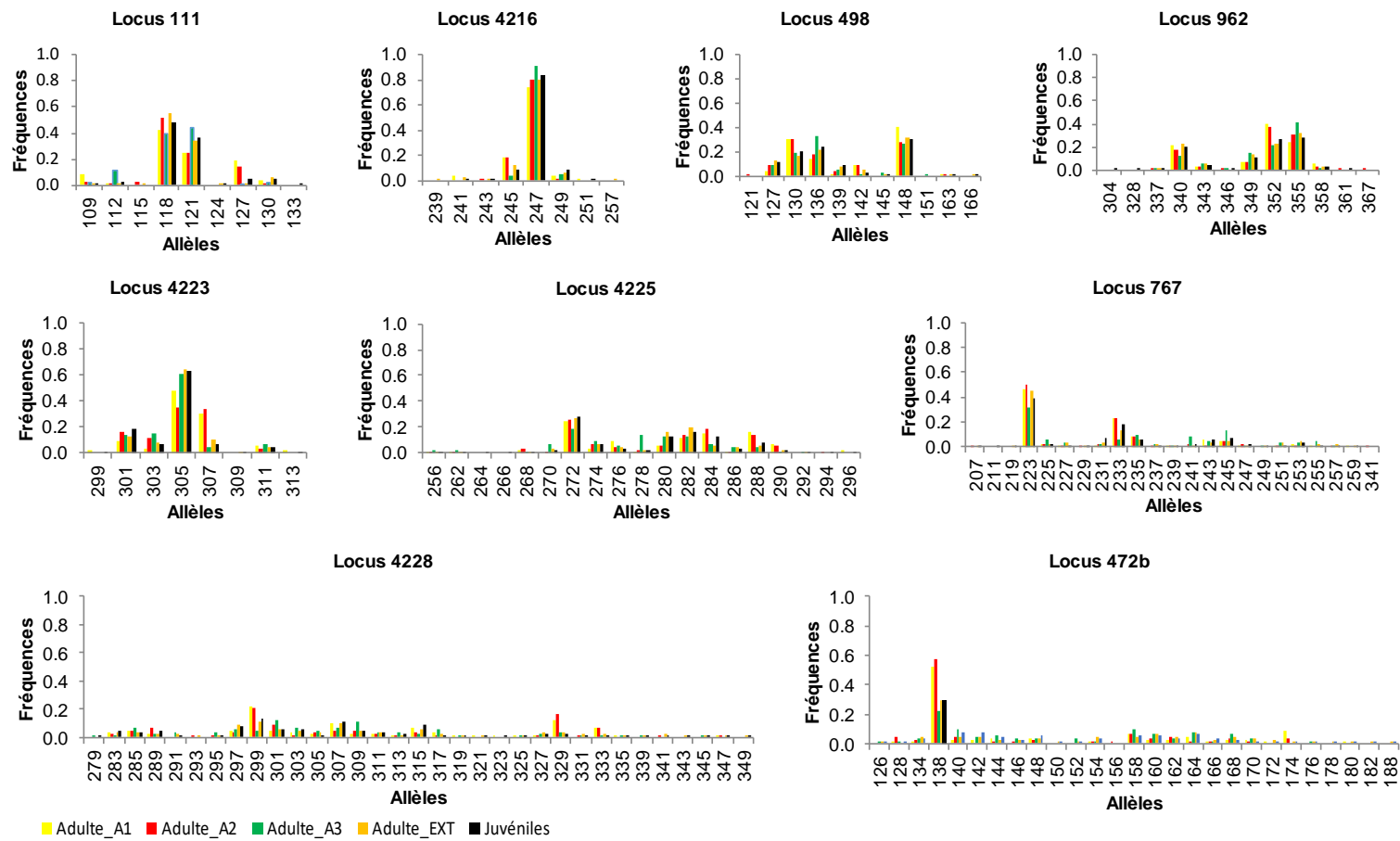


Figure 73 : Histogrammes des fréquences alléliques par locus.

Différents paramètres explicatifs de la diversité génétique, obtenus à partir des fréquences alléliques calculées, comme ceux relatifs aux calculs de l'hétérozygotie et de l'indice de fixation, nécessitent au préalable de vérifier si les populations étudiées sont bien à l'équilibre d'Hardy-Weinberg² afin de pouvoir correctement les interpréter. Dans cet objectif, le calcul de la distance χ^2 , entre une distribution d'effectifs génotypiques observée et la théorique attendue, a été effectué afin de tester l'hypothèse (H0) de leur égalité. Les résultats obtenus montrent que l'hypothèse H0 est rejetée dans une majorité des cas testés (significativité *, **, et *** dans le Tableau 21). Toutefois, il est nécessaire de repositionner ces résultats dans leur contexte populationnel pour pouvoir les expliquer. Les populations en présence, dans un même espace géographique, incluent une part importée d'origine(s) géographique(s) inconnue(s), voir même diverses, et une part native, en plus de juvéniles liés par filiation aux reproducteurs natifs et/ou plantés en présence. De fait, l'introduction de gènes exogènes *via* les plantations, ainsi que l'hétérogénéité très probable du capital génétique introduit, et les tailles limitées des échantillons, ont bien contrarié au moins deux des conditions qui définissent une population idéale, celles qui stipulent qu'elle doit être close génétiquement (pas d'intrant) et de taille infinie. D'où les résultats obtenus.

En analysant plus dans le détail, il apparaît que ces résultats, rejet de l'H0, sont dus à certains locus et/ou populations en particulier (Tableau 21). C'est ainsi que les loci 111, 4216, et 4223 affichent de manière quasi permanente, au travers des différentes populations étudiées, une différence significative à la loi d'Hardy-Weinberg. Les richesses alléliques réduites qu'admettent ces locus, les moins importantes parmi celles des locus investis (Tableau 19), ainsi que la signature de l'expression des diversités alléliques qu'ils portent, parmi les moins équilibrées (Figures 73), permettent d'expliquer les écarts constatés par rapport aux attendus. Quant à ce qui concerne les deux populations les plus marquées par ces différences significatives, celle de juvéniles et celle des individus plantés sur le site A2 (Tableau 21), si le mixage génétique dont sont issus les premiers, juvéniles, peut à lui seul expliquer les résultats acquis en ce qui les concerne, pour les seconds les possibles raisons sont à chercher ailleurs (origines génétiques, etc.).

Les hétérozygoties et indices de fixation calculés (Annexe 12) mettent en évidence les mêmes résultats, ce qui est normal puisque obtenus à partir des fréquences alléliques également. Là où les données différaient de celles attendues pour une population idéale, au sens d'Hardy-Weinberg, les taux d'hétérozygoties affichés dans ce tableau entre les observés et les attendus diffèrent également notablement et les indices de fixation qui leur correspondent sont élevés, de l'ordre d'une dizaine de fois supérieurs aux autres qui sont eux pratiquement nuls. Les mêmes remarques que celles faites précédemment s'appliquent donc à cette partie de l'analyse.

² Le principe de (Castle-)Hardy-Weinberg, ou la loi d'Hardy-Weinberg, est une théorie de génétique des populations, qui postule qu'au sein d'une population (idéale), il y a équilibre des fréquences alléliques et génotypiques d'une génération à l'autre.

Tableau 21 : Équilibre d'Hardy-Weinberg et test du Chi carré (χ^2).

Populations	Locus	ddl	χ^2	Probabilité	Significativité
Plantés A1	Gd_111_R	15	30,539	0,010	*
	Gd_4216_R	10	73,984	0,000	***
	Gd_498_R	21	16,343	0,750	ns
	Gd_962_R	15	15,887	0,390	ns
	Gd_4223_R	21	285,465	0,000	***
	Gd_4225_R	91	105,140	0,148	ns
	Gd_4228_R	253	273,134	0,184	ns
	Gd_472b_R	153	103,210	0,999	ns
	Gd_767_R	91	93,203	0,416	ns
Plantés A2	Gd_111_R	21	111,733	0,000	***
	Gd_4216_R	6	40,692	0,000	***
	Gd_498_R	28	25,399	0,606	ns
	Gd_962_R	45	63,597	0,035	*
	Gd_4223_R	10	185,059	0,000	***
	Gd_4225_R	105	139,374	0,014	*
	Gd_4228_R	231	211,045	0,823	ns
	Gd_472b_R	136	132,048	0,580	ns
	Gd_767_R	153	95,051	1,000	ns
Plantés A3	Gd_111_R	15	24,856	0,052	ns
	Gd_4216_R	3	12,286	0,006	**
	Gd_498_R	28	31,281	0,305	ns
	Gd_962_R	28	27,170	0,509	ns
	Gd_4223_R	10	122,413	0,000	***
	Gd_4225_R	105	129,850	0,050	ns
	Gd_4228_R	325	299,330	0,843	ns
	Gd_472b_R	171	194,706	0,103	ns
	Gd_767_R	136	116,989	0,879	ns
Reproducteurs extérieurs	Gd_111_R	28	257,517	0,000	***
	Gd_4216_R	21	270,446	0,000	***
	Gd_498_R	36	31,276	0,693	ns
	Gd_962_R	21	17,070	0,707	ns
	Gd_4223_R	15	669,673	0,000	***
	Gd_4225_R	105	125,517	0,084	ns
	Gd_4228_R	465	508,232	0,081	ns
	Gd_472b_R	300	324,740	0,156	ns
	Gd_767_R	210	370,914	0,000	***
Juvéniles	Gd_111_R	28	137,706	0,000	***
	Gd_4216_R	15	540,778	0,000	***
	Gd_498_R	36	44,479	0,157	ns
	Gd_962_R	55	75,539	0,034	*
	Gd_4223_R	28	1,439,812	0,000	***
	Gd_4225_R	171	153,200	0,832	ns
	Gd_4228_R	496	478,699	0,704	ns
	Gd_472b_R	325	488,980	0,000	***
	Gd_767_R	253	317,036	0,004	**

ddl : degrés de liberté ; ns=différence entre observée et théorique non significative ; *, **, et *** : différences significatives respectivement à 5%, 1%, et 0,1%.

Afin de mieux appréhender la cohésion de l'ensemble des sous-populations en présences, des calculs deux à deux des distances génétiques qui caractérisent leurs différenciations, F_{st}^3 , ont été effectués (Tableau 22). Il est couramment admis dans la littérature que deux populations soient faiblement diversifiées l'une de l'autre pour un F_{st} inférieur à 0,05, admettent des différences modérées pour $0,05 < F_{st} < 0,15$, ou importantes pour $0,15 < F_{st} < 0,25$, et qu'au-delà de 0,25 elles sont considérées comme très importantes.

Tableau 22 : Indice de différenciation génétique (F_{st}) entre populations.

Plantés A1	Plantés A2	Plantés A3	Adultes ext.	Juvéniles	
0,000					Plantés A1
0,004	0,000				Plantés A2
0,029	0,028	0,000			Plantés A3
0,015	0,016	0,010	0,000		Adultes ext.
0,014	0,016	0,008	0,002	0,000	Juvéniles

Les F_{st} calculés sont tous inférieurs à 0,05 ce qui indiquent que les populations en présence soient toutes faiblement différenciées l'une de l'autre. Ce résultat est concordant avec l'analyse de la distribution de la variance exprimée (AMOVA, Figure 74). En effet, cette dernière analyse met en évidence le fait que la quasi-totalité de la variation génotypique s'exprime de manière diffuse au sein de l'ensemble des individus étudiés (87%) et ne laisse qu'une faible part à sa structuration.

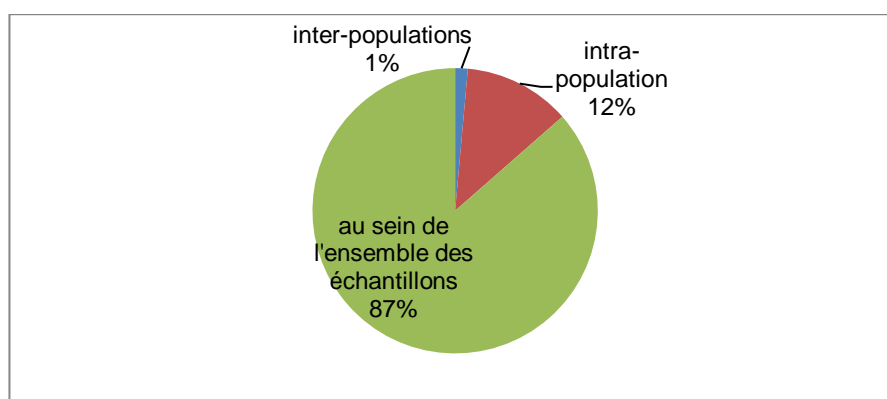


Figure 74 : Pourcentages de variance exprimés.

³ F_{st} : Cet indice est calculé à partir des taux d'hétérozygoties observés et attendus, il dépend donc lui aussi des fréquences alléliques initialement calculées. C'est un indice de diversification des populations. Si les populations sont identiques le $F_{st} = 0$.

Une hiérarchisation des distances génétiques calculées peut être cependant approximée. Ainsi, la population A3 de plantés se distinguerait des autres populations, alors que les populations A1 et A2 apparaîtraient elles très proches l'une de l'autre. Il en serait de même pour les populations extérieures et juvéniles. L'apparente différenciation de la population de plantés sur A3 pourrait être expliquée par les effectifs en mâles et femelles identifiés inférieurs aux autres populations ou encore, pour la même raison citée supra, en rapport avec les faibles effectifs disponibles en individus génotypés pour ce site (moitié moindre que sur A1 ou A2).

La particulièrement faible différenciation relevée entre la population des juvéniles et celle des reproducteurs extérieurs pourrait être due aux liens de parenté qui pourraient exister entre ces deux ensembles populationnels. Cela reste à vérifier dans l'analyse *ad hoc* infra (cf. paragraphe infra sur l'analyse des parentés).

NB : Une identification du sexe des individus génotypés à partir de leurs profils de génotypage a été également tentée. Cela n'a malheureusement pas pu aboutir avec les seules données acquises. Il faudra mettre au point des marqueurs additionnels pour y arriver.

4.2.3.2.5. Analyse de parenté à partir des individus de la zone A admettant un génotype complet pour les neuf locus retenus (logiciel PARFEX ; Sekino & Kakehi, 2012)

- Nombre de locus co-dominants : 9 ;
- Nombre d'individus total : 902 n'admettant aucun locus manquant ;
- Nombre de populations considérées avec leurs effectifs matures totalement génotypés respectifs : 5 (52 plantés A1, 85 plantés A2, 63 plantés A3, 206 adultes extérieurs, 496 juvéniles).

L'approche choisie pour cette partie de l'étude permet d'identifier, par la méthode d'exclusion, les différentes filiations qui pourraient exister entre un groupe de parents candidats connus et le groupe de juvéniles échantillonnés. Cette méthode est basée sur la comparaison directe des profils génotypiques d'un descendant à ceux obtenus chez les parents candidats. Les profils parentaux étant incompatibles, par un ou plusieurs loci, à celui du juvénile étudié sont exclus. Les autres forment le groupe des parents potentiels. *In fine*, par juvénile des parents potentiels sont identifiés de manière isolée ou, le cas échéant, comme potentiels parents d'un éventuel couple en fonction des compatibilités avérées. Ainsi, à un juvénile donné il est possible que plusieurs parents isolés, ou combinaison de couples de parents probables, puissent être attribués.

Dans le cadre de cette étude, où il s'agissait essentiellement de vérifier si des flux de gènes existaient entre les populations d'individus plantés et celle des natifs, l'outil mis au point, constitué d'un ensemble des 9 loci microsatellites, s'avère performant. Il permet de révéler un taux cumulé d'information sur le polymorphisme potentiel de l'ensemble des populations étudiées avoisinant les 80% (Figure 75). Dans le cadre d'une définition plus fine des distances de pollinisation et/ou dissémination de graines, d'autres loci devraient venir compléter la panoplie existante pour arriver aux 100%.

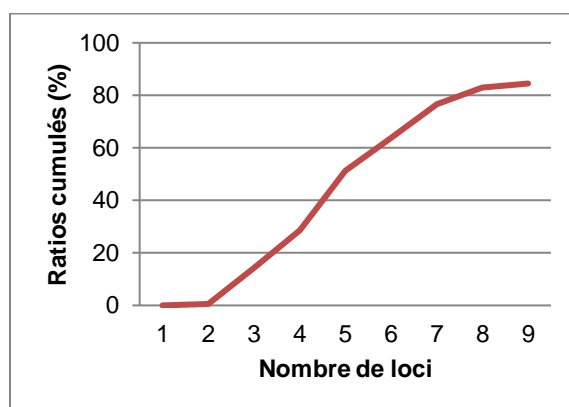


Figure 75 : Ratios cumulés d'information sur le polymorphisme (PIC) en fonction du nombre de locus pris en compte.

Pour cette partie du travail, sont entendus comme parentés identifiées toutes les parentés révélées par l'analyse conduite à partir des individus échantillonnés pour lesquels les génotypes sont complets sur les 9 loci utilisés, et ce tous stades de croissance ou maturité confondus. Ne sont toutefois pas pris en compte les individus plantés de taille inférieure à celle observable chez les individus considérés comme sexuellement matures (Figure 68). Parmi ces parentés identifiées certaines pourraient ne pas être légitimes pour différentes raisons : *i*) un éloignement du juvénile au pied femelle jugée trop important, *ii*) de même pour les pieds mâles, *iii*) juvéniles sous très forte présence de reproducteurs natifs comme en lisière ou maquis naturels (juvéniles hors sites A1, A2, ou A3). Ainsi, et afin de limiter au mieux les faux positifs, un sous-ensemble des parentés identifiées qui serait non concernés par les raisons d'élimination citées ci-dessus, parentés retenues, a été également défini. Le récapitulatif des résultats de l'analyse de parenté est présenté dans le tableau ci-dessous (Tableau 23 ; Annexes 13).

Tableau 23 : Effectifs et résultats généraux de l'étude de parenté.

	A1	A2	A3	extérieurs sur A	Totaux
Mâles	16	30	17	117	180
génomés (8/9)	16	30	17	102	165
génomés (9/9)	15	27	17	98	157
reproducteurs identifiés	9 60%	19 70%	4 24%	37 38%	69 44%
reproducteurs retenus	8 53%	8 30%	0 0%	10 10%	26 17%
Femelles	16	26	11	117	170
génomés (8/9)	16	24	11	114	165
génomés (9/9)	16	24	11	108	159
reproductrices identifiées	8 0,50	14 0,58	5 0,45	48 0,44	75 0,47
reproductrices retenues	8 50%	8 33%	2 18%	9 8%	27 17%
ND	37	37	35		109
génomés (8/9)	37	37	35		109
génomés (9/9)	21	34	35		90
reproducteurs identifiés	11 0,52	16 0,47	8 0,23		35 0,39
reproducteurs retenus	8 38%	6 18%	1 3%		15 17%
Juveniles	264	214	52	79	609
génomés (8/9)	220	204	28	77	529
génomés (9/9)	201	196	26	73	496
avec parent(s) identifiés	113 56%	75 38%	10 38%	30 41%	198 0,40
avec parent(s) retenus	60 30%	50 26%	8 31%		118 28%
Totaux	333	307	115	313	1068
génomés (8/9)	289	295	91	293	968
génomés (9/9)	253	281	89	279	902

Apparaissent en grisé les chiffres inchangés par rapport au tableau présenté au niveau des données de génotypage, et en noire ceux relatifs aux parentés identifiées et retenues.

Les effectifs des individus dont le génotype est complet sur les neuf loci présentés dans le tableau, hors juvéniles, sont ceux de plants matures seulement. Les profils génotypiques complets de seize autres individus plantés sur le site A1, et pour lesquels le genre n'a pu être déterminé (ND), n'ont pas été pris en compte dans cette partie d'étude car considérés comme sexuellement immatures au regard de leur taille respective.

À partir des individus génotypés de la zone A, l'analyse conduite a permis d'identifier des parents pour 198 des 496 juvéniles au génotype complet (40%). En ne considérant que les plus plausibles de ces liens de parenté à l'échelle des trois sites plantés, l'effectif de juvéniles pour lesquels des parentés ont été retenues est de 118 sur les 423 (496-73 juvéniles extérieurs) complètement génotypés des sites A (28%). Ils admettraient de 1 à 5 parents potentiels (Tableau 24). Un effort supplémentaire en génotypage, qui passe par l'augmentation du nombre de locus microsatellites à étudier, pourrait permettre de tendre vers l'identification exacte de parents isolés ou couples de parents s'ils sont présents au sein de l'échantillonnage effectué.

Tableau 24 : Nombre de parents potentiels par juvéniles à partir des données retenues. Les chiffres entre parenthèses se réfèrent au nombre d'individus plantés sur le site. Les chiffres relatifs aux ND (individus indéterminés au niveau du genre) ne sont affichés qu'à titre indicatif.

Nombre de parents potentiels	0*	1	2	3	4	5	Totaux**	Nombre moyen de parent par juvénile
Nombre de juvéniles concernés sur A1	141	42	9	3	3	3	60	0,48
Nombre de juvéniles concernés sur A2	146	36	9	4	1	0	50	0,36
Nombre de juvéniles concernés sur A3	18	7	0	1	0	0	8	0,38
Totaux	305	85	18	8	4	3	118	0,42
% hors orphelins		72%	15%	7%	3%	3%		

* : les juvéniles sans parent identifié sont considérés comme orphelins dans l'étude.

** : chiffres ne tenant pas compte des effectifs en orphelins.

De même, la réduction du nombre d'orphelins passe par un élargissement considérable de l'échantillonnage des reproducteurs natifs au regard de leurs effectifs sur le site ainsi que de pouvoir disposer des profils génotypiques complets pour tous les individus échantillonnés.

Parmi les juvéniles dont des parentés ont été identifiées, il y en a qui admettent un voir des couples de parents potentiels (Annexe 14). Trois d'entre eux seulement (1J090621, 2J081222, 2J161142) admettraient comme couple de parents des individus plantés, cependant :

- aucun des deux parents identifiés n'est issu du même site (A1-A3 ou A2-A1) et les juvéniles concernés ne sont pas sur les mêmes sites que leur mère présumée,
- de plus, pour le juvénile 2J161142 la famille identifiée est éclatée sur les trois sites A1, A2, et A3,

bien que non impossible, ces situations suggèrent, au regard des effectifs conséquents en reproducteurs natifs avoisinants, que les familles ainsi constituées ne soient pas légitimes. Ces familles identifiées ne seront donc *in fine* pas retenues. Les seuls couples de parents possibles impliquant un reproducteur planté, au regard des résultats acquis à l'issue de l'analyse de parenté, seraient donc mixtes, planté x natif, et il n'y aurait alors aucune observation de descendance retenue admettant un couple de parents plantés. Cette hypothèse est cohérente avec la faible différenciation des F_{st} observés entre les populations de juvéniles et la population des reproducteurs natifs de la zone A ce qui, de fait, positionnent également les juvéniles soit en descendants de reproducteurs natifs soit, pour une petite partie d'entre eux, comme descendants issus de croisements entre reproducteurs plantés et natifs. Une interrogation s'impose alors. Y aurait-il impossibilité d'échange de flux de gènes entre reproducteurs plantés ou l'échantillonnage en juvéniles serait-il trop faible pour que leur existence soit décelable au vu de la très forte présence en reproducteurs natifs avoisinants ? Une étude de descendance, à partir de fruits récoltés sur des pieds mères plantés, ainsi que des relevés de phénologie sur les plantations ont été initiés afin de pouvoir répondre à cette question. À date, aucun résultat n'est encore disponible.

En ce qui concerne plus particulièrement les reproducteurs identifiés et non définis au niveau du genre (ND), leur reconnaissance comme parent potentiel ne peut être confirmée puisqu'aucune observation de preuves physiques telles que résidus de fruits ou de fleurs mâles sur leurs branches n'a pu être faite sur la période du projet. De plus, les nombres de parentés impliquant un ou plusieurs reproducteurs ND sur chacun des trois sites plantés sont de valeurs équivalentes et inférieures à ceux, différents entre eux, qui concernent uniquement des reproducteurs sexuellement identifiés pour ces mêmes sites. Ces différences dans les résultats entre reproducteurs ND et les autres pourraient être dus à un biais introduit dans les données avec notamment la présence d'individus ND qui seraient en fait des immatures et ne doivent donc pas être comptabilisés dans des effectifs de reproducteurs.

Plus généralement, et en ne tenant pas compte des résultats acquis à partir de juvéniles se référant à des parents positionnés sur d'autres sites, ou trop éloignés, ou à un, voire deux parents non-déterminés (ND), il s'avère qu'aucun couple de parents proposé dans l'analyse ne puisse être finalement retenu.

L'analyse des données relatives à la recherche de parenté pour les juvéniles du site A1 accuse les plus forts taux de réussite en reproducteurs identifiés comme retenus (Tableau 23). Si cela paraît normal par rapport à A3, pour les raisons vues supra, vis-à-vis du site A2, qui admet un taux de juvéniles par quadrat supérieur (Figures 67), cela ne correspond pas à ce qui pouvait être attendu. Ce décalage peut être expliqué par le fait que l'environnement direct du site A1 ait fait l'objet d'un échantillonnage plus dense chez les natifs à l'occasion de la mise au point de l'outil moléculaire utilisé (Figure 71). Il n'est alors pas aberrant que le très fort taux de réussites obtenu au niveau des parentés identifiées pour les juvéniles de ce site soit supérieur aux deux autres (60% vs 43% et 43%). À noter que cette différence ne se répète pas au niveau des résultats sur les parentés retenues (A1 : 30%, A2 : 27% et A3 : 29%) qui demeurent dans des proportions similaires les unes aux autres. De plus, et aux regards de l'ensemble des résultats acquis, les effectifs en reproducteurs femelles et mâles sur A1 restent comparables entre identifiés et retenus alors que pour A2 des différences marquantes apparaissent. L'effet prégnant du milieu environnant pour A2 par rapport à A1 pourrait expliquer cette différence. En effet, la forte promiscuité avec l'environnement direct du site A2, notamment avec des reproducteurs natifs qui l'entourent, par rapport aux conditions de milieu des deux autres sites, est un facteur prépondérant pour expliquer une « contamination » importante de ce site en juvéniles issus de croisement d'individus adultes natifs avoisinants. Cette « contamination » de fait impacte négativement la proportion des filiations se rapportant aux reproducteurs plantés.

En ne s'intéressant qu'aux juvéniles positionnés sur les sites plantés, 68 reproducteurs ont été retenus dans l'analyse conduite (Tableau 25) et un à douze juvéniles potentiels ont pu être identifiés pour chacun d'entre eux.

Du tableau ci-dessous (Tableau 25) il n'apparaît pas de différence notable liée au sexe du reproducteur vis-à-vis du nombre de reproducteurs liés à des juvéniles pour un site donné. Par contre, la comparaison entre parcelles permet de faire ressortir des différences. C'est ainsi que les chiffres pour les reproducteurs plantés des sites A1 et A2, bien qu'identiques, traduisent un recrutement relatif plus important pour les plantés d'A1 aux regards des effectifs en individus mâles ou femelles qui les caractérisent. Sur A2, c'est l'apport dû aux reproducteurs extérieurs qui se révèle être deux fois plus conséquent, et sur le site A3 le recrutement apparaît être quasi nul. L'environnement immédiat de chacun de ces trois sites, notamment l'effet de proximité à des reproducteurs natifs avoisinants, joue assurément un rôle

dans ce résultat. Plus le site est soumis à l’empreinte des natifs plus les juvéniles qui le peuplent y sont liés.

Tableau 25 : Reproducteurs retenus pour les juvéniles des trois sites de la zone A. Les chiffres entre parenthèses se réfèrent au nombre d’individus plantés sur le site. Les chiffres relatifs aux ND (individus indéterminés au niveau du genre) ne sont affichés qu’à titre indicatif.

Site revégétalisé	Nombre de reproducteurs liés à des juvéniles du site			Nombre de juvéniles par site liés à des reproducteurs		
	Femelle	mâle	ND	Femelles	Mâles	ND
Plantés A1	8 (/16)	8 (/16)	8 (/37)	27	27	34
Extérieur A1	2	3	-	5	3	-
Plantés A2	8 (/26)	8 (/30)	6 (/37)	18	22	11
Extérieur A2	5	6	-	13	6	-
Plantés A3	2 (/11)	0 (/17)	1 (/35)	3	0	1
Extérieur A3	2	1	-	5	1	-

Par ailleurs, en retraçant globalement le nombre de juvéniles par site rattachables à un type de reproducteur donné (mâles ou femelles plantés ou natifs), il apparaît clairement, là aussi, un effet lisière. Les sites dont les limites géographiques sont à proximité immédiate de natifs reproducteurs admettent une plus forte abondance en juvéniles issus de reproductions croisées natifs x plantés ou natifs x natifs. Ce qui se révèle être plus important sur A2 par rapport à A1, et percevable aussi sur A3 bien qu’à effet très réduit de par son isolement géographique.

À titre d’illustration, par site, 3 figures retraçant les liens de parentés entre juvéniles et parents retenus (hors ND) sont également présentés infra (Figure 76). Le site A3, indemne de lisière à proximité dans un espace ouvert n’admet que très peu de juvéniles relativement aux deux autres sites A1 et A2.

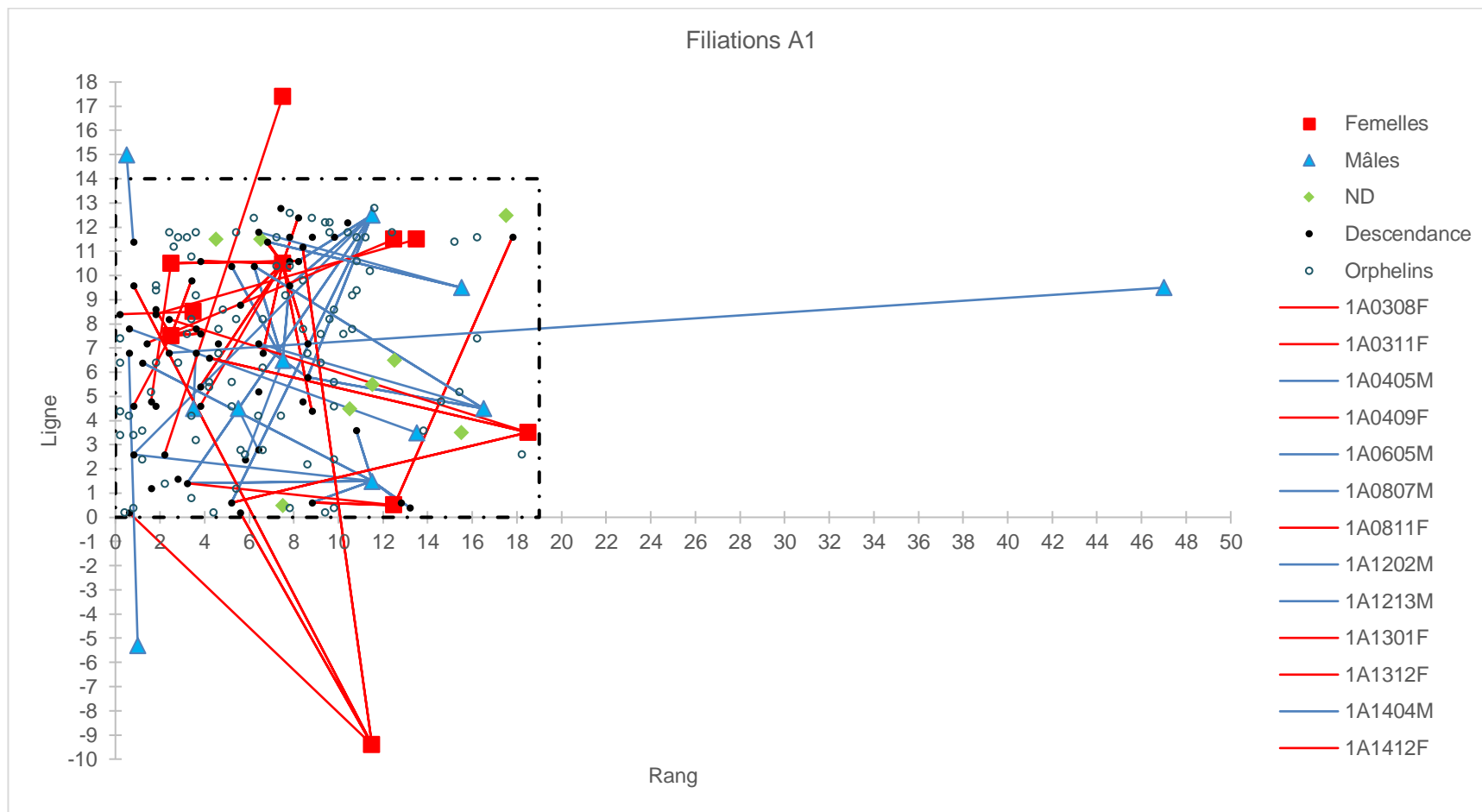
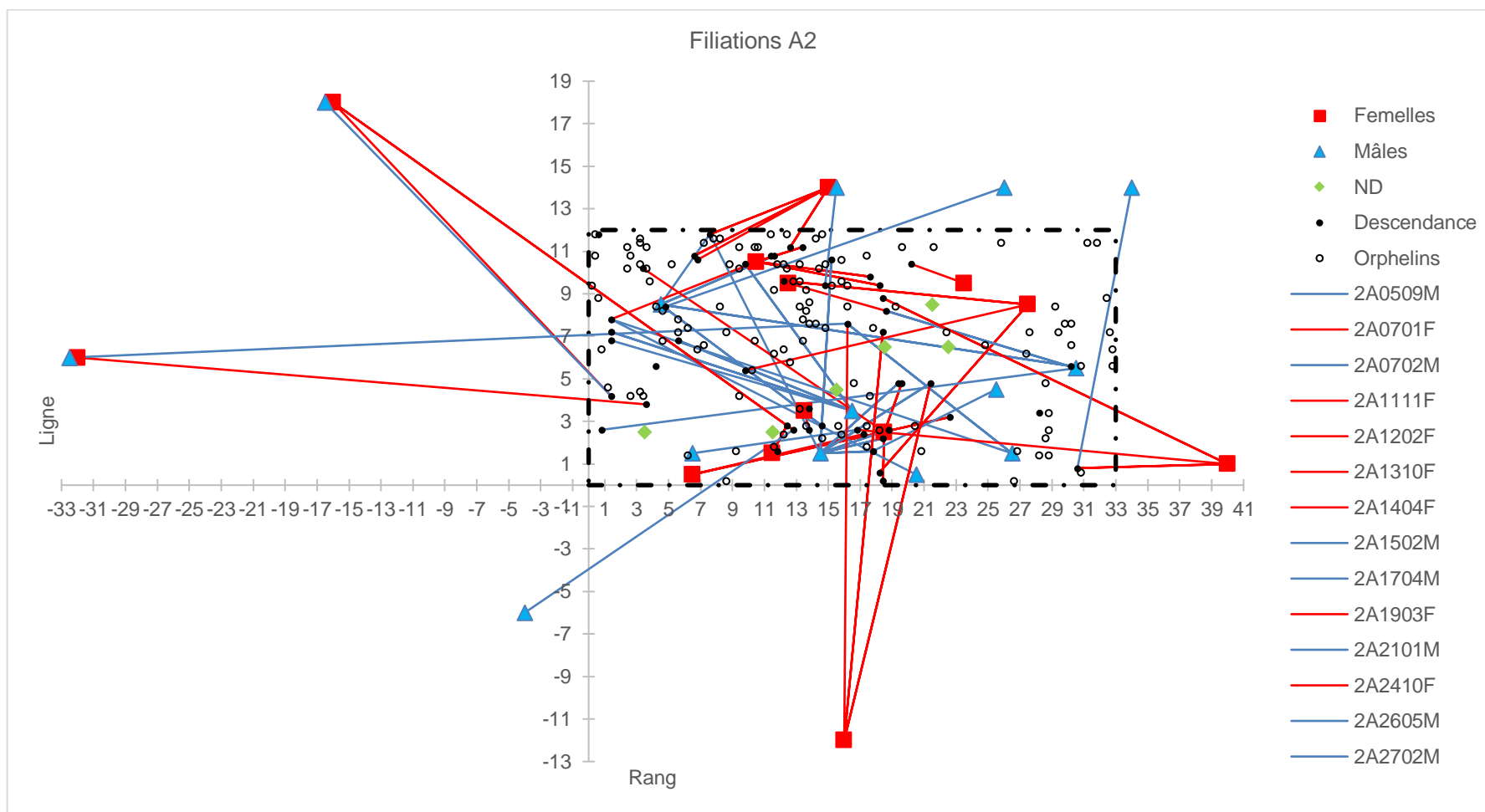
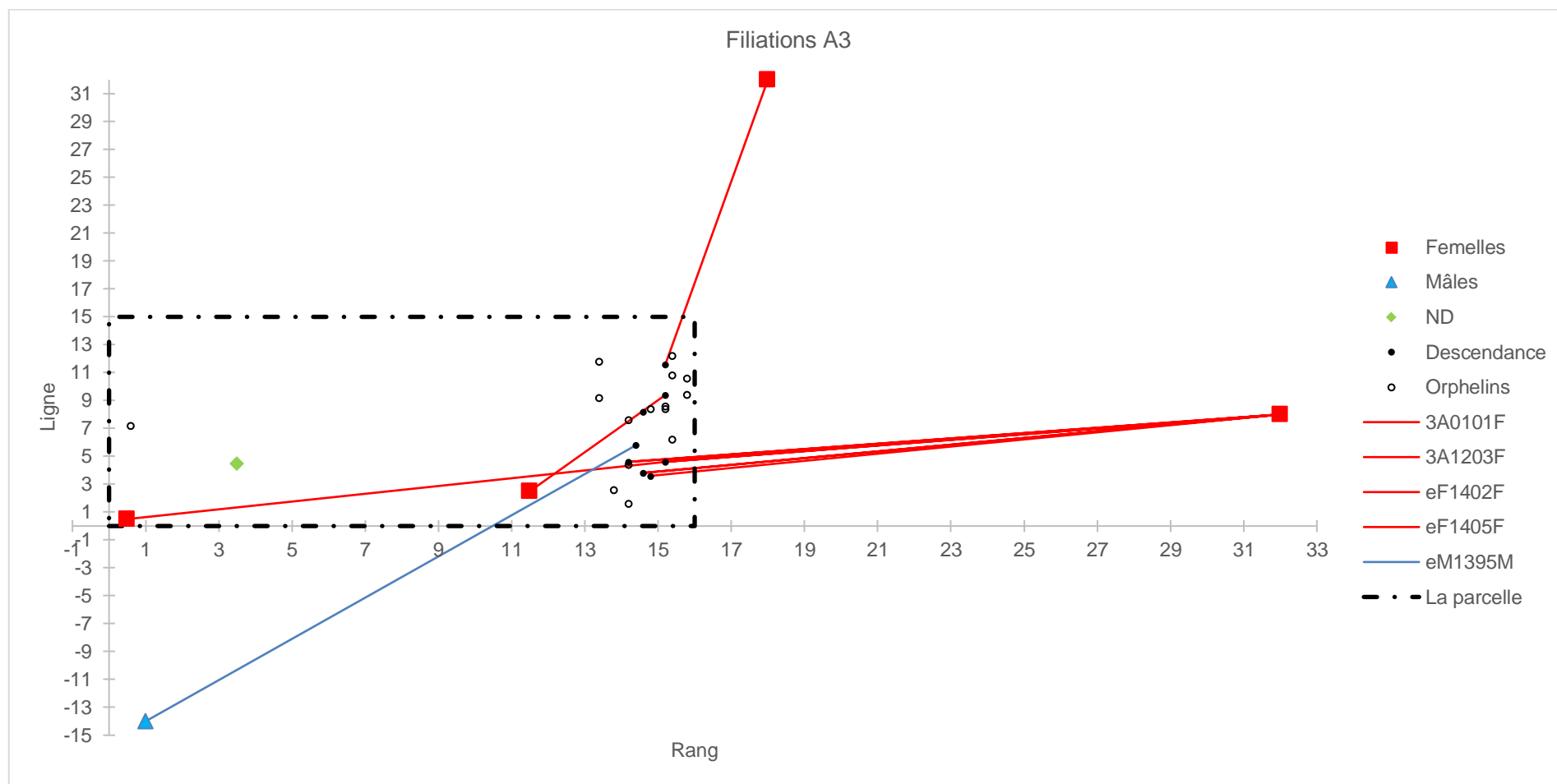


Figure 76 : Liens de parenté sur les données retenues.



Suite Figure 76.



Suite Figure 76.

Finalement, que faut-il retenir des analyses génétiques ?

- L'analyse de diversité à l'échelle des individus plantés sur la zone A révèle des différences notables entre les sites A1, A2, et A3. Ce résultat suggère que les lots de semences utilisés pour les plantations proviennent de **différentes origines génétiques** et qu'ils n'ont pas été au préalable homogénéisés.
- La faible différenciation de diversité entre les profils génétiques de juvéniles des sous-parcelles plantées et ceux des reproducteurs natifs extérieurs à la zone A **suggère un fort lien de parenté entre ces deux entités**.
- Le fait qu'il est été possible d'identifier, pour un nombre conséquent de juvéniles des sous-parcelle plantées, un parent parmi les effectifs de reproducteurs de ces mêmes sites, sans pour autant avoir identifié l'autre parent, ou l'avoir identifié dans la population de reproducteurs natifs de la zone A, témoignent **de l'existence de flux de gènes par pollen importants entre ces deux groupes populationnels**. Ce résultat marque aussi le **poids important des natifs dans la régénération**, poids qui augmente en fonction de **l'importance des lisières à *Gymnostoma deplancheanum*** présentes à proximité immédiate des sites.
- **L'outil moléculaire élaboré s'est révélé être efficace** pour l'identification de filiations entre reproducteurs plantés ou natifs et les juvéniles en présence sans pour autant y réussir à chaque fois. Une augmentation du nombre de marqueurs permettrait de définir d'une part plus finement ces filiations en éliminant notamment les faux parents possibles et d'autre part d'approcher plus justement les distances de pollinisation ou dissémination de graines pour l'espèce.
- Afin de tendre vers un **nombre « d'orphelins » moins important**, il est nécessaire d'augmenter la taille de l'échantillonnage des natifs.
- Une étude de descendance fine est nécessaire pour définir s'il existe une **barrière d'échange aux flux de gènes entre les reproducteurs plantés** (étude en cours).
- **L'identification du genre** (mâle ou femelle) pour l'espèce étudiée devrait être possible à l'aide d'autres marqueurs moléculaires à définir sur la base du sexe des individus reconnus à partir des fleurs qu'ils portent.

En chiffres :

- 1 espèce végétale modèle : *Gymnostoma deplancheanum*.
- 1 site de référence : la zone de l'Ancienne pépinière, également dénommée « A ».
- 4 types de population : extérieure, natifs de la zone A, plantés sur la zone A, juvéniles de la zone A.
- 3 sites plantés : A1, A2, A3.
- 1 131 individus échantillonnés (225 plantés, 234 reproducteurs natifs de la zone A, 46 reproducteurs extérieurs, 626 juvéniles).
- 15.569 loci microsatellites di ou tri-mer identifiés.
- 9 loci retenus pour l'obtention des génotypes.
- 1.020 génotypes obtenus.

Résumé des principaux résultats acquis et recommandations générales afférentes

Synthèse résultat	Recommandation
Des hétérogénéités constatées dans les tailles des individus plantés ainsi que dans leurs diversités génétiques.	Homogénéiser les lots de graines dédiées à la plantation et mieux connaître les caractéristiques propres des ressources génétiques utilisées, l'historique des plantules obtenues en pépinière, ainsi que les conditions environnementales conditionnant leur croissance (<i>sélection de provenances, âges des graines et temps de pépinière avant repiquage au champ, densité plantation, effet coupe-vent et lutte contre la déshydratation, symbiose avec l'actinomycète fixateur d'azote Frankia, conditions de sol et en matière organique présente, ...</i>). ⇒ Des expérimentations à conduire.
Des productions annuelles en fruits-graines par reproducteur qui se révèlent être inconstantes.	Approfondir les connaissances sur la phénologie de l'espèce. ⇒ Des suivis phénologiques sur le terrain sur plus de trois ans.
Le statut dioïque de l'espèce permet d'envisager une optimisation du ratio mâles/ femelles pour une meilleure et plus uniforme répartition de la régénération à l'échelle de l'aire traitée.	Favoriser le recrutement annuel en juvéniles par le choix d'un sexe ratio optimisé à la plantation et une répartition uniforme des pieds femelles à l'échelle de l'aire à restaurer ⇒ conditionné au développement d'outils dédiés à la détermination du sexe des plants avant plantation
L'importance incontestable de « l'effet lisière », contenant des <i>Gymnostoma deplancheanum</i> natifs, sur le recrutement et la régénération.	Planter au plus près de ces lisières, aura un effet sur la quantité et la durabilité des recrûs ce qui à terme favorisera la régénération. ⇒ Mieux définir les distances de flux de gènes par pollinisation et dissémination de graines
Plantation hétérogène en terme de santé des pieds et régénération éphémère.	Protéger et accompagner les plantations et leurs descendances pour garantir la réussite des opérations de revégétalisation. ⇒ Définir les conditions de cet accompagnement (arrosage, fertilisation, protections physiques par couvert végétal, accumulation de litière, ou coupe-vent, ...)
La taille de 66 cm semble marquer le début de maturité sexuelle de l'espèce. Cependant, d'autres facteurs, non déterminés, doivent également intervenir puisqu'un peu moins de la moitié (48%) des individus sont apparemment stériles parmi les plantés.	Approfondir la phénologie et la physiologie de la reproduction pour cette espèce afin d'améliorer le rendement des plantations. ⇒ Études à prévoir.
L'outil moléculaire élaboré s'est révélé satisfaisant pour l'étude, cependant il mériterait d'être amélioré.	- Utiliser plus de marqueurs afin de définir d'une part plus finement les filiations observées en éliminant notamment les faux parents, et d'autre part d'approcher plus justement les distances de pollinisation ou dissémination de graines pour l'espèce. - Augmenter la taille d'échantillonnage chez les reproducteurs natifs afin de limiter au mieux le nombre « d'orphelins ».
La non-observation de juvénile admettant pour parents deux reproducteurs plantés, suggère l'existence d'une barrière à flux de gènes entre eux.	Une étude de descendance à partir de fruits récoltés, et non sur les recrûs existants, permettrait de définir s'il s'agit d'un biais statistique relatif au trop faible échantillonnage en juvéniles effectué sur ces derniers au regard de la forte présence en reproducteur natifs.
Il apparaît nécessaire de moduler à volonté le sexe ratio des plants à introduire à l'échelle des plantations pour cette espèce.	Définir d'autres marqueurs moléculaires dédiés à partir d'individus dont le sexe a pu être identifié au moment de la floraison.

4.2.4. PERSONNEL NON-PERMANENT ET PRODUCTION SCIENTIFIQUE

Stagiaire :

- Ursule BAZIT, 2017, stage de deuxième année du Master Biologie Végétale Intégrative : Gène, Plante et Agrosystème, parcours : « Eco-Physiologie », Faculté des sciences et techniques de l'Université d'Angers (France) (6 mois).

Personnel engagé :

- Géraldine BIDAU, CDD niveau ingénieur (mai 2016, 1 mois).

4.2.5. REFERENCES

Barthe, S., Gugerli, F., Barkley, N.A., Maggia, L., Cardi, C., et al., 2012. Always Look on Both Sides: Phylogenetic Information Conveyed by Simple Sequence Repeat Allele Sequences. *PLoS ONE* 7(7): e40699. doi:10.1371/journal.pone.0040699.

Peakall R. and Smouse P.E. (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics* 28, 2537-2539. Peakall R. and Smouse P.E. (2006) GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 6, 288-295. <http://biology.anu.edu.au/GenAlEx/>

Sekino M., Kakehi S., 2012. PARFEX v1.0: an EXCELTM-based software package for parentage allocation. *Conservation Genetics Resources* 4:275–278. <http://cse.fra.affrc.go.jp/sekino/PARFEX/>

Verhaegen, D., Assoumane, A., Serret, J., Noe, S., Favreau, B., Vaillant, A., Gateblé, G., Pain, A., Papineau, C., Maggia, L., Tassin, J., Bouvet, J.M., 2013. Structure and genetic diversity of *Ixora margaretae* an endangered species. *Tree Genetics & Genomes*, 9(2), 511-524. doi.org/10.1007/s11295-012-0575-7.

5. CONCLUSION GENERALE

L'empreinte de l'Homme sur notre planète est telle que certains scientifiques parlent de la 6^{ème} crise d'extinction majeure et désignent même une nouvelle époque géologique, l'Anthropocène. Dans ce contexte de perte de la biodiversité, dans ses divers aspects, il apparaît plus qu'essentiel de mettre en place des actions de conservation et de restauration des milieux dégradés. Le développement de tels programmes nécessite, en tout premier lieu, de mieux appréhender le fonctionnement de ces écosystèmes afin de, par la suite, mettre en place des indicateurs de suivi environnemental.

Le présent projet de recherche, à l'acronyme révélateur, « Bioindic », se plaçait entièrement dans cette optique. Afin de répondre à ces objectifs, sur une même aire géographique, différents modèles (des microorganismes du sol aux plantes) et différents pans de la biodiversité (des gènes aux communautés) ont été abordés. Cette approche novatrice multi-modèle et multi-échelle, a plus que porté ses fruits ; les résultats sont nombreux et prennent, globalement, une même orientation.

Sans rentrer dans tous les aspects développés dans les diverses sections, nous avons constaté des variations le long de la chronoséquence de référence entre les différentes formations végétales qui la constituent. Il a été possible de comparer les différents sites revégétalisés à ce système de référence. Il en ressort un ensemble d'indicateurs biologiques, tel que les rapports Ascomycètes:Basidiomycètes, Cyanobactéries:Chloroflexi, Saprophytes:Symbiotiques, ou encore la structure des communautés, le nombre de recrûs de plantes et les flux de gènes. Ces bioindicateurs révèlent des réponses variables des sites revégétalisés : les sites A2 et C se rapprochent en effet des milieux fermés (*i.e.* le maquis dense, le maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* et le maquis préforestier), tandis que les sites A1, A3 et B sont quant à eux plus similaires au milieu ouvert (*i.e.* le maquis ouvert). Les métriques développées se sont donc révélées être de bons indicateurs de l'état des milieux et de la trajectoire prise par ceux ayant été revégétalisés.

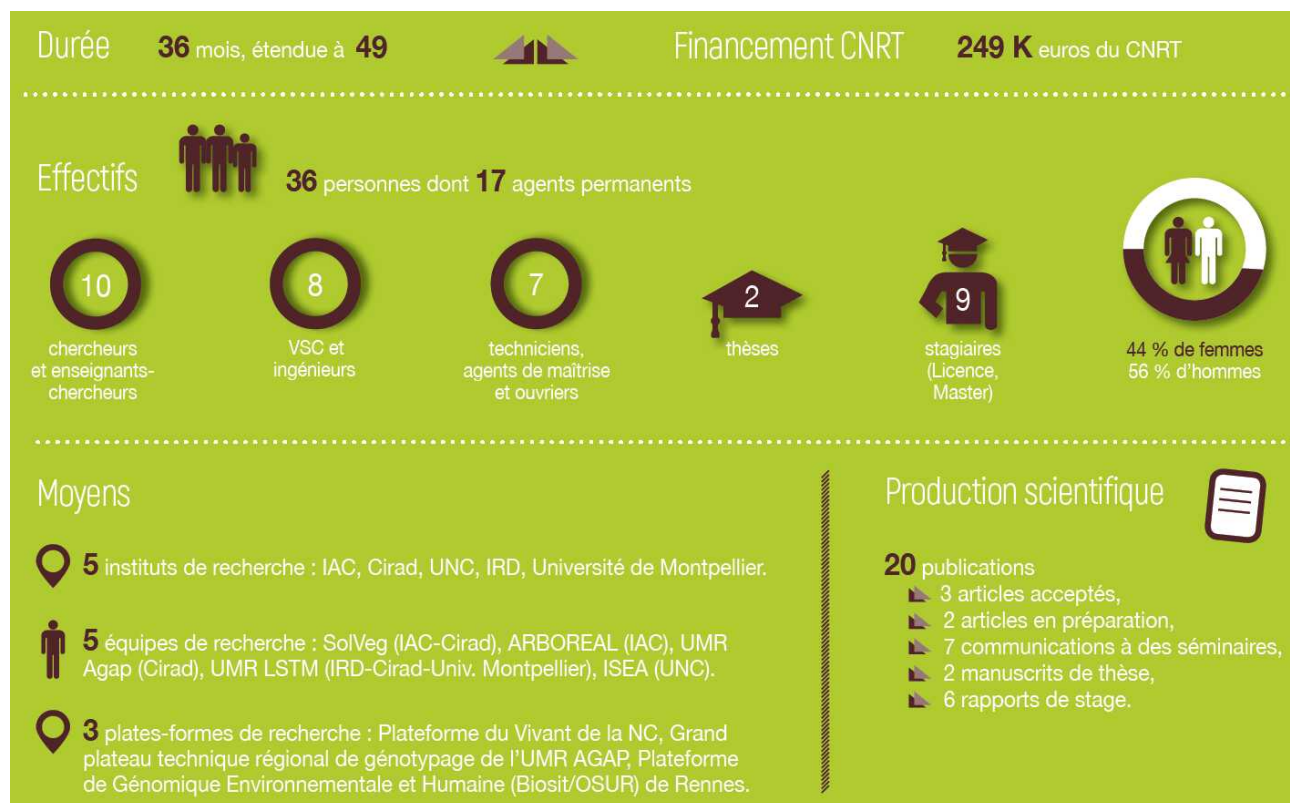
Divers éléments semblent être impliqués dans le succès ou non des opérations de restauration. La proximité de formations naturelles denses, la plantation de l'espèce *G. deplancheanum*, ou encore d'*Acacia spirorbis*, facilitant probablement toutes deux l'arrivée d'autres espèces de plantes *via* leurs cortèges symbiotiques, ou pour finir, le type de sol rencontré, sont des causes potentielles. Néanmoins, malgré certaines fortes présomptions, il est difficile de déterminer clairement quels mécanismes sont impliqués. Pour ce faire, il nous semble indispensable de mettre en place des systèmes expérimentaux jouant sur différentes variables (le nombre d'espèces plantées, le statut symbiotique de ces espèces, l'inoculation préalable ou non de ces espèces, le type de sol, la distance au milieu environnant, etc.), et ce afin d'évaluer l'implication de chacune. A l'heure actuelle, aucun système n'existe en Nouvelle-Calédonie. Il s'avérera également indispensable de croiser, plus avant, les données relatives aux communautés microbiennes du sol, aux communautés de plantes et à la physico-chimie du sol (Annexe 15). De plus, les indicateurs que nous avons pu développer sur des systèmes que nous avons qualifiés de « simples » (*i.e.* végétaux uniquement plantés), se doivent d'être testés sur des systèmes plus « complexes », comprenant, par exemple, l'apport de topsoil, l'ensemencement par des graines, ou la combinaison de différentes techniques. Il nous sera ainsi possible de déterminer si certains indicateurs peuvent être généralisés, ou si ceux-ci sont plus probants dans un cas plutôt que dans un autre.

Quoi qu'il en soit, nous avons pu constater que le couple ADN environnemental (ADNe) des microorganismes du sol - métabarcoding, l'écologie des semences, les communautés végétales et la génétique des populations d'une espèce de plante modèle, constituent un ensemble d'approches

permettant de réaliser efficacement un diagnostic environnemental des écosystèmes des terrains miniers.

Finalement, d'autres outils d'accompagnement au diagnostique et de suivi ont été mis en place. En effet, à travers ce projet, une banque de sol à des fins microbiologiques, un pipeline d'analyse rendu libre d'accès (https://gitlab.com/IAC_SolVeg/CNRT_BIOINDIC), et une base de données graines ont été développés. Compte tenu de la diversité et de la grande quantité de données générées, il s'avérera nécessaire de mettre en place des systèmes de gestion *via* la création de bases de données.

6. QUELQUES AUTRES CHIFFRES CLEFS

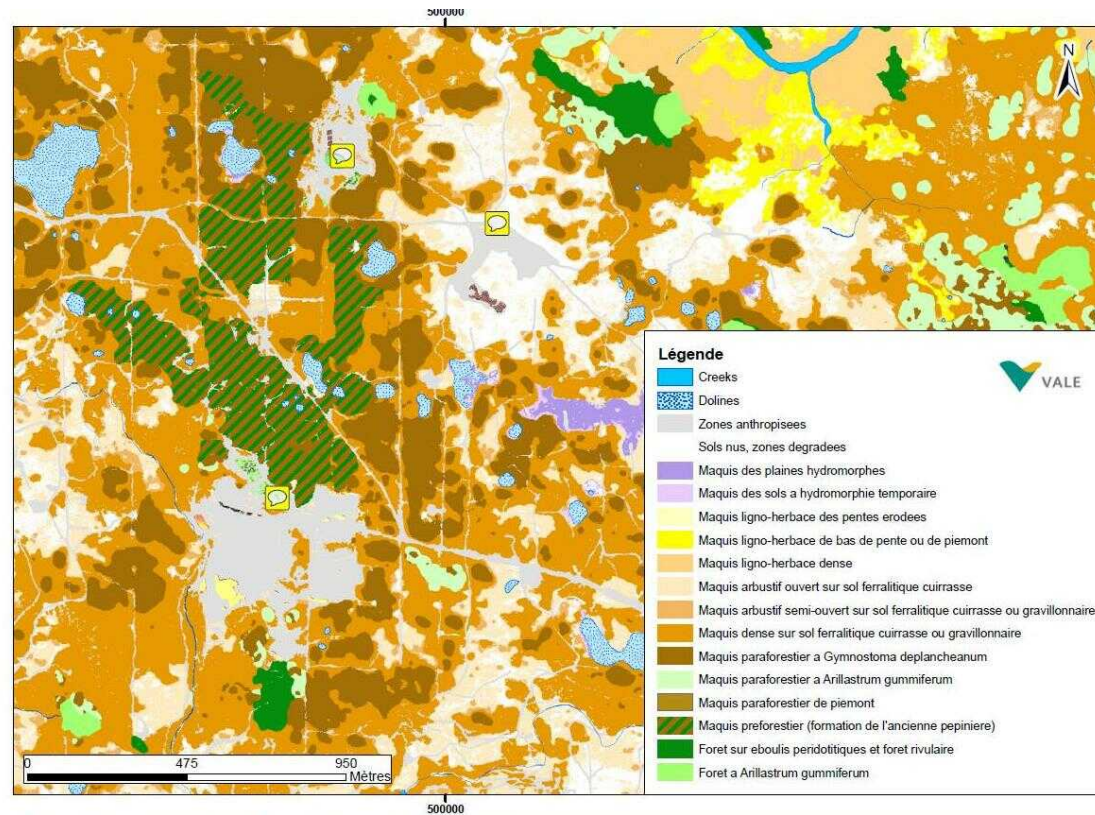


ANNEXE 1 – Liste des espèces plantées par sites restaurés (A1, A2, A3, B, et C) (présence : 1, absence : 0) et des formations végétales selon FLORICAL vers. 22.IV.2016 (Morat *et al.*, 2012 ; Munzinger *et al.*, 2016) dans lesquelles elles peuvent être rencontrées, ainsi que leur mode de dispersion. F : Forêt dense humide, L : Forêt sclérophylle, M : Maquis, R : Végétation des zones humides, N : Fourrés secondaires et végétation rudérale. A noter que les espèces avec un chiffre 1 en gras sont celles n'ayant pas survécu.

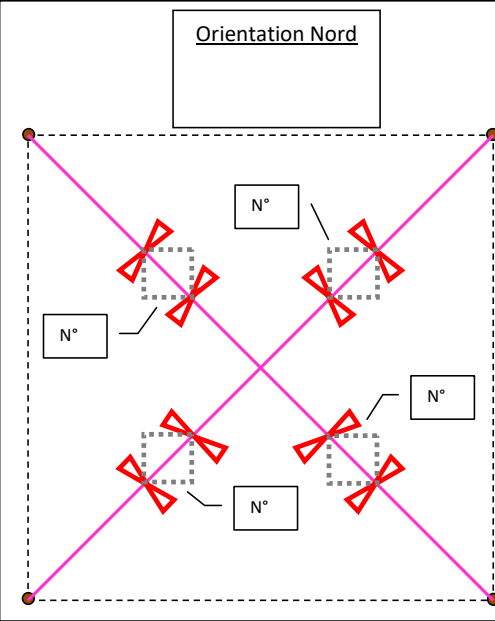
Espèces plantées	Formation (Florical)	Mode de dispersion	A1	A2	A3	B	C
<i>Acacia spirorbis</i>	LMN	Myrmécochorie	0	0	0	0	1
<i>Agathis lanceolata</i>	F	Anémochorie	0	0	0	0	1
<i>Agathis ovata</i>	FM	Anémochorie	0	0	0	1	0
<i>Alphitonia neocaledonica</i>	FLM	Endozoochorie	0	0	0	1	0
<i>Alstonia coriacea</i>	FM	Anémochorie	0	0	0	1	0
<i>Araucaria columnaris</i>	F	Anémochorie	0	0	0	0	1
<i>Austrobuxus carunculatus</i>	FM	Myrmécochorie	0	0	0	1	0
<i>Elaeodendron cunninghamii</i>	FM	Chiroptérochorie	0	0	0	1	0
<i>Casuarina collina</i>	LMRN	Anémochorie	0	0	0	0	1
<i>Comptonella drupacea</i>	FM	Endozoochorie	0	0	0	1	0
<i>Cupaniopsis sp</i>		Myrmécochorie	0	0	0	1	0
<i>Dodonaea viscosa</i>	LMN	Anémochorie	0	0	0	1	0
<i>Gardenia aubryi</i>	FM	Chiroptérochorie	0	0	0	1	0
<i>Geijera balansae</i>	FL	Barochorie	0	0	0	1	0
<i>Grevillea exul</i> subsp. <i>rubiginosa</i>	M	Anémochorie	1	1	1	1	0
<i>Grevillea gillivrayi</i>	MR	Anémochorie	0	0	0	1	0
<i>Guioa glauca</i>	FM	Myrmécochorie	0	0	0	1	0
<i>Gymnostoma deplancheanum</i>	FM	Anémochorie	1	1	1	1	0
<i>Hibbertia lucens</i>	FM	Myrmécochorie	0	0	0	1	0
<i>Joinvillea plicata</i>	MN	Endozoochorie	0	0	0	1	0
<i>Myodocarpus fraxinifolius</i>	FM	Anémochorie	0	1	0	1	0

<i>Myodocarpus involucratus</i>	FM	Anémochorie	0	0	0	1	0
<i>Piliocalyx laurifolius</i>	FM	Chiroptérochorie	0	0	0	1	0
<i>Pleioluma baueri</i>	FM	Endozoochorie	0	0	0	1	0
<i>Pleioluma sebertii</i>	M	Endozoochorie	0	0	0	1	0
<i>Myrsine asymmetrica</i>	FM	Endozoochorie	0	0	0	1	0
<i>Scaevola balansae</i>	FM	Endozoochorie	0	0	0	1	0
<i>Stenocarpus comptonii</i>	M	Anémochorie	0	0	0	1	0
<i>Stenocarpus umbelliferus</i>	FM	Anémochorie	0	0	0	1	0
<i>Styphelia veillonii</i>	M	Endozoochorie	0	0	0	1	0
<i>Syzygium frutescens</i>	FM	Endozoochorie	1	1	1	1	0
<i>Syzygium macranthum</i>	F	Endozoochorie	0	0	0	1	0
<i>Syzygium mouanum</i>	FM	Endozoochorie	0	0	0	1	0
<i>Syzygium ngoyense</i>	M	Endozoochorie	0	0	1	1	0
<i>Syzygium wagapenses</i>	FM	Endozoochorie	0	0	0	1	0
<i>Tarenna hexamera</i>	M	Endozoochorie	0	0	0	1	0
<i>Tristaniopsis guillainii</i>	FM	Anémochorie	0	0	0	1	0
<i>Xanthostemon aurantiacus</i>	MR	Anémochorie ou Barochorie	0	0	0	1	0

ANNEXE 2 – Cartographie de la végétation de la portion du plateau de Goro étudiée (source : Vale NC).



ANNEXE 3 – Modèle de fiche de terrain à renseigner lors de la collecte des échantillons de sol.

Nom de l'étude : Projet Bioindic Site : Goro	
Date de prélèvement : J _____ M _____ A _____ Code parcelle : _____	
Noms des préleveurs : (1) _____ (2) _____	
Ordre de prélèvement et orientation parcelle : <ul style="list-style-type: none"> • Sur le schéma <ul style="list-style-type: none"> ○ Indiquer le Nord par une flèche ○ Numéroté de 1 à 4 les quadrats dans le sens des aiguilles d'une montre (le quadrat n°1 est celui situé au Nord) • Echantillon semences : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non 	<div style="border: 1px solid black; padding: 10px; text-align: center;"> <p><u>Orientation Nord</u></p>  </div>
Remarques :	

ANNEXE 4 - Liste des espèces issues de l'inventaire botanique classées par ordre alphabétique des espèces, avec leur présence (noté par un 1) en MAO : maquis arbustif ouvert, en MD : maquis arbustif dense, en MPGd : maquis paraforestier à *Gymnostoma deplancheanum* et MP : maquis préforestier; dont les 37 espèces « candidates » (communes aux quatre formations végétales) à la restauration écologique (surlignées).

Famille	Espèce	Formations végétales				Mode de dispersion	Référence concernant la structure du fruit/graine	Type de dormance/absence de dormance	Référence concernant le type de dormance/l'absence de dormance
		MAO	MD	MPGd	MP				
Schizaeaceae	<i>Actinostachys intermedia</i>			1	1	Anémochorie	c		
Lauraceae	<i>Adenodaphne uniflora</i> var. <i>uniflora</i>		1	1		Endozoochorie	a	Non déterminé	
Pteridaceae	<i>Adiantum hispidulum</i>				1	Anémochorie	c		
Araucariaceae	<i>Agathis ovata</i>	1				Anémochorie	a	ND	e
Rhamnaceae	<i>Alphitonia neocaledonica</i>			1	1	Endozoochorie	c, d	PY	e
Apocynaceae	<i>Alstonia coriacea</i>	1	1	1	1	Anémochorie	a	ND?	e
Apocynaceae	<i>Alstonia odontophora</i>				1	Anémochorie	a	ND?	e
Apocynaceae	<i>Alyxia glaucophylla</i>		1	1	1	Endozoochorie	a	ND or PD?	f

Apocynaceae	<i>Alyxia tisserantii</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	a	ND or PD?	f
Loranthaceae	<i>Amyema scandens</i>			1	1	Endozoochorie	a	MD?	f
Loranthaceae	<i>Amylothea dictyophleba</i>			1		Endozoochorie	c	Non déterminé	
Araucariaceae	<i>Araucaria muelleri</i>	1				Anémochorie	a	ND?	e
Picrodendraceae	<i>Austrobuxus carunculatus</i>	1	1	1		Myrmécochorie	a	ND	e
Picrodendraceae	<i>Austrobuxus ellipticus</i>	1		1	1	Myrmécochorie	a	ND?	e
Picrodendraceae	<i>Austrobuxus pauciflorus</i>			1	1	Myrmécochorie	a	ND?	e
Picrodendraceae	<i>Austrobuxus rubiginosus</i>				1	Myrmécochorie	a	ND?	e
Arecaceae	<i>Basselinia pancheri</i>		1	1	1	Endozoochorie	a	PY?	h
Proteaceae	<i>Beauprea spathulaefolia</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	a	Non déterminé	
Proteaceae	<i>Beauprea montisfontium</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	a	Non déterminé	
Calophyllaceae	<i>Calophyllum caledonicum</i>			1	1	Endozoochorie	c	ND or PD?	f
Salicaceae	<i>Casearia silvana</i>				1	Myrmécochorie	a	ND?	f

Myrtaceae	<i>Cloezia artensis var. artensis</i>	1				Anémochorie or barochorie	a	ND	e
Cunoniaceae	<i>Codia albifrons</i>	1	1	1		Anémochorie or barochorie	a	ND?	e
Cunoniaceae	<i>Codia discolor</i>				1	Anémochorie or barochorie	a	ND	e
Cunoniaceae	<i>Codia nitida</i>	1				Anémochorie or barochorie	a	ND?	e
Cunoniaceae	<i>Codia spatulata</i>		1	1	1	Anémochorie or barochorie	a	ND	e
Rubiaceae	<i>Coelospermum crassifolium</i>	1	1			Endozoochorie	c	Non déterminé	
Rutaceae	<i>Comptonella cf sessilifoliola</i>				1	Endozoochorie	c	PD?	h
Rutaceae	<i>Comptonella drupacea</i>		1	1	1	Endozoochorie	c	PD?	h
Cyperaceae	<i>Costularia comosa</i>	1		1		Anémochorie or barochorie	e	ND	e
Lauraceae	<i>Cryptocarya guillauminii</i>			1	1	Endozoochorie	a	Non déterminé	
Cunoniaceae	<i>Cunonia vieillardii</i>	1	1	1		Anémochorie or barochorie	a	ND?	e

Sapindaceae	<i>Cupaniopsis oedipoda</i>		1	1		Myrmécochorie	c	PD or MPD?	f
Rubiaceae	<i>Cyclophyllum balansae</i>				1	Endozoochorie	c	Non déterminé	
Podocarpaceae	<i>Dacrydium araucarioides</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	a	MPD?	f
Myodocarpaceae	<i>Delarbreia paradoxa</i> subsp. <i>paradoxa</i>				1	Endozoochorie	c	MPD?	f
Orchidaceae	<i>Dendrobium odontochilum</i>	1	1			Anémochorie	a	MPD?	f
Orchidaceae	<i>Dendrobium steatoglossum</i>		1	1	1	Anémochorie or barochorie	a	MPD?	f
Orchidaceae	<i>Dendrobium verruciferum</i>	1		1	1	Anémochorie or barochorie	a	MPD?	f
Bignoniaceae	<i>Deplanchea speciosa</i>		1	1	1	Anémochorie	a	ND	b
Asphodelaceae	<i>Dianella adenanthera</i>		1	1	1	Endozoochorie	c	PD?	f
Celastraceae	<i>Dicarpellum pronyense</i>				1	Endozoochorie	c	Non déterminé	
Ebenaceae	<i>Diospyros vieillardii</i>			1	1	Endozoochorie	a	ND or PD?	f
Ericaceae	<i>Dracophyllum ramosum</i>	1		1		Anémochorie or barochorie	a	PD?	g

Ericaceae	<i>Dracophyllum verticillatum</i>	1	1	1	1	Anémochorie or barochorie	a	PD?	g
Elaeocarpaceae	<i>Dubouzetia confusa</i>		1	1		Myrmécochorie	a	Non déterminé	
Meliaceae	<i>Dysoxylum canalense</i>		1	1	1	Endozoochorie	a	ND or PD?	f
Elaeocarpaceae	<i>Elaeocarpus alaternoides</i>		1	1		Endozoochorie	a	PD?	f
Elaeocarpaceae	<i>Elaeocarpus sp</i>				1	Endozoochorie	a	PD?	f
Santalaceae	<i>Elaphanthera baumannii</i>		1	1	1	Endozoochorie	a	Non déterminé	
Lauraceae	<i>Endiandra cf baillonii</i>			1	1	Chiroptérochorie	a	ND or PD?	f
Orchidaceae	<i>Eriaxis rigida</i>	1	1	1		Anémochorie	a	Non déterminé	
Erythroxylaceae	<i>Erythroxylum novocaledonicum</i>		1	1		Endozoochorie	c	ND or PD?	f
Myrtaceae	<i>Eugenia hurlimannii</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	c	PD?	f
Myrtaceae	<i>Eugenia stricta</i>	1	1		1	Endozoochorie	c	PD?	f
Santalaceae	<i>Exocarpos neocaledonicus</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	a	MPD?	f
Flagellariaceae	<i>Flagellaria neocaledonica</i>			1	1	Endozoochorie	c	Non déterminé	
Rutaceae	<i>Flindersia fourneri</i>			1	1	Anémochorie	c	ND	b

Pandanaceae	<i>Freycinetia sp</i>			1	1	Endozoochorie	c	Non déterminé	
Cyperaceae	<i>Gahnia novocaledonensis</i>	1	1	1	1	Anémochorie or barochorie	c	PY?	d, e
Clusiaceae	<i>Garcinia amplexicaulis</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	c	ND	h
Clusiaceae	<i>Garcinia balansae</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	c	ND	b
Clusiaceae	<i>Garcinia neglecta</i>		1	1	1	Chiroptérochorie	c	ND or PD?	f
Rubiaceae	<i>Gardenia aubryi</i>	1	1	1	1	Chiroptérochorie	c	ND	h
Proteaceae	<i>Garnieria spathulaefolia</i>			1		Endozoochorie	a	Non déterminé	
Stemonuraceae	<i>Gastrolepis austrocaledonica</i>		1	1	1	Endozoochorie	a	Non déterminé	
Loganiaceae	<i>Geniostoma densiflorum</i> var. <i>densiflorum</i>	1	1	1		Barochorie	c	PD?	f
Lamiaceae	<i>Gmelina neocaledonica</i>	1				Endozoochorie	a	ND?	f
Orchidaceae	<i>Gonatostylis vieillardii</i>			1	1	Anémochorie or barochorie	a	Non déterminé	
Myrtaceae	<i>Gossia vieillardii</i>		1	1	1	Endozoochorie	c	ND?	i
Proteaceae	<i>Grevillea exul</i> subsp. <i>Rubiginosa</i>	1				Anémochorie	e	ND	e

Proteaceae	<i>Grevillea gillivrayi</i> var. <i>gillivrayi</i>		1			Anémochorie	e	ND	e
Sapindaceae	<i>Guioa glauca</i> var. <i>glauca</i>	1	1	1	1	Myrmécochorie	c	PY?	e
Sapindaceae	<i>Guioa villosa</i>		1	1	1	Myrmécochorie	c	PY?	e
Casuarinaceae	<i>Gymnostoma deplancheanum</i>	1	1	1	1	Anémochorie	c	ND	e
Rubiaceae	<i>Gynochthodes</i> sp		1	1		Endozoochorie	c	ND or PD?	f
Rutaceae	<i>Halfordia kendack</i>				1	Endozoochorie	c	Non déterminé	
Monimiaceae	<i>Hedycarya</i> sp				1	Endozoochorie	a	MPD?	f
Dilleniaceae	<i>Hibbertia pancheri</i>	1	1	1	1	Myrmécochorie	a	MPD	h
Dilleniaceae	<i>Hibbertia trachyphylla</i>	1				Myrmécochorie	a	MPD?	f, h
Linaceae	<i>Hugonia penicillanthemum</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	c	Non déterminé	
Aquifoliaceae	<i>Ilex sebertii</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	b, c	MPD	b, f
Rubiaceae	<i>Ixora francii</i> var. <i>angustifolia</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	c	PD?	f
Cyperaceae	<i>Lepidosperma perteres</i>			1		Anémochorie or barochorie	c	PD?	f

Thymelaeaceae	<i>Lethedon oblonga</i>				1	Barochorie	c	Non déterminé	
Lauraceae	<i>Litsea triflora</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	a	ND or PD?	f
Asparagaceae	<i>Lomandra insularis</i>	1	1	1	1	Myrmécochorie	c	MPD?	f
Picrodendraceae	<i>Longetia buxoides</i>	1	1	1	1	Barochorie	c	ND	e
Apocynaceae	<i>Marsdenia nigriflora</i>				1	Anémochorie	c	ND?	g
Orchidaceae	<i>Megastylis gigas</i>	1	1		1	Anémochorie or barochorie	a	Non déterminé	
Myrtaceae	<i>Metrosideros nitida</i>				1	Anémochorie	a	ND or PD?	f
Clusiaceae	<i>Montrouziera sphaeroidea</i>	1	1	1	1	Chiroptérochorie	d	PD?	b
Myodocarpaceae	<i>Myodocarpus crassifolius</i>	1	1	1	1	Anémochorie	c	ND?	e, b
Myodocarpaceae	<i>Myodocarpus fraxinifolius</i>	1	1	1		Anémochorie	c	ND	e
Myodocarpaceae	<i>Myodocarpus involucratus</i>	1		1		Anémochorie	c	ND	b
Primulaceae	<i>Myrsine asymmetrica</i> subsp. <i>Asymmetrica</i>		1	1	1	Endozoochorie	c	ND or PD?	f
Primulaceae	<i>Myrsine diminuta</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	c	ND or PD?	f
Rutaceae	<i>Myrtopsis cf novaecaledoniae</i>	1	1	1		Barochorie	c	Non déterminé	

Nepenthaceae	<i>Nepenthes vieillardii</i>		1		1	Anémochorie or barochorie	c	ND or PD?	f
Lamiaceae	<i>Oxera neriifolia subsp. Neriifolia</i>		1	1	1	Endozoochorie	a	ND	e
Cunoniaceae	<i>Pancheria billardierei</i>	1	1	1	1	Anémochorie	a	ND	e
Cunoniaceae	<i>Pancheria hirsuta</i>	1	1	1		Anémochorie	a	ND	e
Pandanaceae	<i>Pandanus lacuum</i>		1	1	1	Endozoochorie	c	PD?	f
Apocynaceae	<i>Parsonsia cf effusa</i>	1	1	1	1	Anémochorie	a	PD?	f
Phyllanthaceae	<i>Phyllanthus castus</i>	1				Endozoochorie	a	ND or PD?	f
Phyllanthaceae	<i>Phyllanthus pronyensis</i>				1	Endozoochorie	a	ND or PD?	f
Pittosporaceae	<i>Pittosporum deplanchei</i>				1	Endozoochorie	a	MPD?	f
Pittosporaceae	<i>Pittosporum hematommallum</i>		1	1	1	Endozoochorie	a	MPD?	f
Sapotaceae	<i>Planchonella sp</i>			1		Endozoochorie	a	ND or PD?	f
Sapotaceae	<i>Planchonella wakere</i>				1	Chiroptérochorie	a	ND or PD?	f
Sapotaceae	<i>Pleioluma cf lasiantha</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	a	ND?	h
Sapotaceae	<i>Pleioluma baueri</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	a	ND	h

Sapotaceae	<i>Pleioluma sebertii</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	a	ND	h
Araliaceae	<i>Plerandra cf reginae</i>				1	Endozoochorie	c	Non déterminé	
Araliaceae	<i>Plerandra gordonii</i>		1	1	1	Endozoochorie	c	Non déterminé	
Araliaceae	<i>Polyscias dioica</i>			1	1	Endozoochorie	c	MD or MPD?	f
Araliaceae	<i>Polyscias mackeei</i>		1	1	1	Endozoochorie	c	MD or MPD?	f
Araliaceae	<i>Polyscias otopyrena</i>		1	1	1	Endozoochorie	c	MD or MPD?	f
Araliaceae	<i>Polyscias pancheri</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	c	MD or MPD?	f
Rubiaceae	<i>Psychotria cardiochlamys</i>		1	1	1	Endozoochorie	c	ND or PD?	f
Rubiaceae	<i>Psychotria leratii</i>			1	1	Endozoochorie	c	ND or PD?	f
Rubiaceae	<i>Psychotria rupicola</i>	1	1			Endozoochorie	c	ND or PD?	f
Rubiaceae	<i>Psychotria semperflorens</i>			1	1	Endozoochorie	c	ND or PD?	f
Dennstaedtiaceae	<i>Pteridium</i> <i>subsp. esculentum</i>	1				Anémochorie	c		
Sapotaceae	<i>Pycnandra</i> <i>subsp. decandra</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	c	PD	h
Sapotaceae	<i>Pycnandra glabella</i>				1	Barochorie	a	PD?	h

Myrtaceae	<i>Rhodamnia andromedoides</i>	1	1			Endozoochorie	c	PD?	f
Connaraceae	<i>Rourea balansana</i>				1	Myrmécochorie	c	PD?	f
Myrtaceae	<i>Sannantha leratii</i>	1				Anémochorie barochorie	a	ND	e
Goodeniaceae	<i>Scaevola balansae</i>			1		Endozoochorie	a	PD?	f, e
Goodeniaceae	<i>Scaevola beckii</i>	1	1		1	Endozoochorie	a	PD?	f, e
Goodeniaceae	<i>Scaevola cylindrica</i>			1	1	Endozoochorie	a	PD?	f, e
Schizaeaceae	<i>Schizaea dichotoma</i>	1			1	Anémochorie	c		
Cyperaceae	<i>Schoenus neocaledonicus</i>	1				Anémochorie barochorie	c	ND	e
Smilacaceae	<i>Smilax cf neocaledonica</i>	1	1	1	1	Barochorie	a	PY?	f
Thymelaeaceae	<i>Solmsia calophylla</i>	1	1	1	1	Barochorie	c	PD?	h
	<i>sp 1</i>			1					
	<i>sp 2</i>			1					
	<i>sp 3</i>				1				

	sp 4				1				
	sp 5				1				
	sp 6				1				
	sp 7				1				
	sp 8				1				
Cunoniaceae	<i>Spiraeanthemum meridionale</i>				1	Anémochorie	a	ND	d
Proteaceae	<i>Stenocarpus comptonii</i>	1	1	1	1	Anémochorie	a	ND	h
Proteaceae	<i>Stenocarpus umbelliferus</i> <i>var. billardieri</i>	1	1			Anémochorie	a	ND	e
Gleicheniaceae	<i>Stromatopteris moniliformis</i>	1	1	1		Anémochorie	c		
Ericaceae	<i>Styphelia cf veillonii</i>	1	1			Endozoochorie	a	PD or MPD?	f, e
Ericaceae	<i>Styphelia cymbulae</i>		1	1	1	Endozoochorie	a	MD	e
Ericaceae	<i>Styphelia macrocarpa</i>		1	1	1	Endozoochorie	a	PD or MPD?	f, e
Ericaceae	<i>Styphelia pancheri</i>		1		1	Endozoochorie	a	PD or MPD?	f, e
Myrtaceae	<i>Syzygium austrocaledonicum</i>		1	1		Endozoochorie	a	ND or PD?	f

Myrtaceae	<i>Syzygium baladense</i>				1	Chiroptérochorie	a	ND or PD?	f
Myrtaceae	<i>Syzygium cf xanthostemifolium</i>		1			Endozoochorie	a	ND or PD?	f
Myrtaceae	<i>Syzygium frutescens</i>	1			1	Endozoochorie	a	ND or PD?	f
Myrtaceae	<i>Syzygium multipetalum</i>		1			Endozoochorie	a	ND or PD?	f
Myrtaceae	<i>Syzygium ngoyense</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	a	ND	h
Myrtaceae	<i>Syzygium pancheri</i>		1			Endozoochorie	a	ND or PD?	f
Myrtaceae	<i>Syzygium wagapense</i>				1	Endozoochorie	a	ND or PD?	f
Apocynaceae	<i>Tabernaemontana cerifera</i>			1	1	Endozoochorie	a	ND	b
Primulaceae	<i>Tapeinosperma cf robustum</i>		1	1	1	Endozoochorie	c	Non déterminé	
Rubiaceae	<i>Tarenna hexamera</i>	1	1	1	1	Endozoochorie	c	ND or PD?	h
Rubiaceae	<i>Tarenna rhyalostigma</i>			1	1	Endozoochorie	c	ND or PD?	h
Myrtaceae	<i>Tristaniopsis calobuxus</i>		1			Anémochorie	a	ND	e
Myrtaceae	<i>Tristaniopsis guillainii</i> var. <i>guillainii</i>	1			1	Anémochorie	a	ND	e
Myrtaceae	<i>Tristaniopsis macphersonii</i>	1	1	1	1	Anémochorie	a	ND	h

Myrtaceae	<i>Uromyrtus emarginata</i>	1	1			Endozoochorie	c	ND?	e
Myrtaceae	<i>Uromyrtus ngoyensis</i>			1	1	Endozoochorie	c	ND?	e
Thymelaeaceae	<i>Wikstroemia indica</i>		1	1	1	Endozoochorie	c	ND	e
Myrtaceae	<i>Xanthomyrtus kanalaensis</i>				1	Endozoochorie	c	ND	e
Annonaceae	<i>Xylopia pancheri</i>		1	1	1	Barochorie	c	MPD?	f
Winteraceae	<i>Zygogynum sp</i>			1	1	Endozoochorie	a	PD?	h

^aAubréville *et al.*, 1967-2004; ^bTiavouane *et al.*, 2014; ^chbNC: Herbier de nouméa (IRD-Nouvelle-Calédonie); ^dZongo 2010; ^eL'Huillier *et al.*, 2010; ^fBaskin & Baskin, 2014; ^gSID: Kew botanical garden (<http://data.kew.org/sid/>), ^hbase de données IAC-EcoRCE issue des résultats de recherche dont ces travaux de thèse; ⁱWulff *et al.*, 2012

ANNEXE 5 - Construction et évaluation des indices de chaque sous-attribut indiquant le progrès de rétablissement des plantations par rapport au maquis arbustif dense (MD). A noter que les éléments des lignes blanches sont utilisés pour avoir les résultats des lignes grises qui les suivent.

		Information par plantation				Ecosystème de référence	Construction de l'indice	Résultats de l'indice			
Attributs	Sous-attributs	A1	A2	A3	B	MD		A1	A2	A3	B
Absence de menaces	Espèces indésirables (animal et végétal)					Aucune espèce indésirable observée (indice: 5)	A dire d'expert et basé sur le degré de présence	3	4	4	2
	Menaces anthropiques (route, exploitation)					Aucune menace anthropique (indice:5)	A dire d'expert et basé sur le degré de menace	4	4	4	3
	Feux					Aucun feu (indice:5)	historique de fréquence des feux dans la zone d'étude	4	4	4	3
Composition spécifique	Nombre (%) d'espèces communes aux plantations et au MD	20 (22%)	27 (29%)	14 (15%)	16 (17%)	92 espèces ligneuses identifiées	Indice: 1: 0-5%, 2: 6-15%, 3: 16-40%, 4: 41-80%, 5:>80%	3	3	2	3
	Nombre (%) d'espèces barochores par rapport au MD	2 (33%)	2 (33%)	2 (33%)	2 (33%)	6	Indice: 1: 0-5%, 2: 6-15%, 3: 16-40%, 4: 41-80%, 5:>80%	3	3	3	3
	Nombre (%) d'espèces anémochores par rapport au MD	9 (47%)	13 (68%)	9 (47%)	11 (58%)	19		4	4	4	4
	Nombre (%) d'espèces zoochores par rapport au MD	16 (24%)	23 (34%)	11 (16%)	19 (28%)	67		3	3	3	3
Structure des communautés	Hauteur moyenne (cm) des plants plantés vivants (pourcentage par rapport au MD)	107 (43%)	171 (68%)	122 (49%)	86 (34%)	250 cm	Indice: 1: 0-5%, 2: 6-15%, 3: 16-40%, 4: 41-80%, 5:>80%	4	4	4	3
	A=Surface de la plantation (m ²)	504	1104	600	700						
	B= Surface totale occupée par les houppiers des espèces plantées	182	585	234	231						
	Pourcentage de recouvrement des houppiers des individus plantés: $B*100/A$	36%	53%	39%	33%	80%	Indice: 1: 0-5%, 2: 6-25%, 3: 26-40%, 4:41-60%, 5:>60%	3	4	3	3

	Densité au m ² par classe de hauteur (cm)	cf. Annexe 6.3					Indice moyen défini à partir de la densité des plantations par rapport au MD par classe de hauteur Indice: 1: 0-5%, 2: 6-15%, 3: 16-40%, 4: 41-80%, 5: >80%	1	1	1	2
	C=NB individus plantés vivants>10cm	181	339	210	387						
	D=Nombre de recrûs>10cm	1	167	0	13						
	Pourcentage du nombre d'individus de taille supérieure à 10 cm par rapport à l'écosystème de référence (MD): ((C+D)*100)/(A*22)	1,6%	2,1%	1,6%	2,6%	22 individus en moyenne >10cm dans 1m ² en MD	Indice: 1: 0-5%, 2: 6-15%, 3: 16-40%, 4: 41-80%, 5: >80%	1	1	1	1
	E =Nombre de recrûs<10cm	2423	7713	748	3746						
	Pourcentage du nombre d'individus de taille inférieure à 10 cm par rapport à l'écosystème de référence (MD): (E*100)/(A*19)	25%	37%	7%	28%	19 individus en moyenne <10cm dans 1m ² en MD	Indice: 1: 0-5%, 2: 6-15%, 3: 16-40%, 4: 41-80%, 5: >80%	3	3	2	3
Fonction de l'écosystème planté	F=Nombre d'individus plantés vivants	184	340	215	392						
	G=Nombre total d'individus plantés	197	370	223	700						
	Taux de survie des espèces plantées: F*100/G	93%	92%	96%	56%		Indice: 1: 0-30%, 2: 31-60%, 3: 61-70%, 4: 71-80%, 5: >80%	5	5	5	2
	H=Nombre d'individus plantés vivants et fertiles	30	116	27	51						
	Capacité de reproduction par plantation: H*100/F	16%	34%	13%	13%		Indice: 1: 0-20%, 2: 21-40%, 3: 41-60%, 4: 61-80%, 5: >80%	1	2	1	1
	I=Nombre de recrûs <10 cm issus des individus plantés	1973	6541	574	3720						
	Capacité de régénération par plantation: (I*100)/(A*19)	21%	31%	5%	28%		Indice: 1: 0-15%, 2: 16-30%, 3: 31-50%, 4: 51-75%, 5: >75%	2	3	1	2

Echanges avec l'extérieur	Connectivité entre habitats (distance de la zone tampon possédant une superficie de végétation (MD, MPGd ou MP) \geq à celle de la plantation)	20m	20m	40m	80m	Voir figure 3.3. Indice: 1: > 160m, 2: 0-160m, 3: 0-80m, 4: 0-40m, 5: 0-20m.	5	5	4	3
	Flux de dispersion à l'échelle du paysage (distance lisière à lisière entre plantation et MD, MPGd ou MP le plus proche)	6m	6m	13m	45m	En relation avec les distances de dispersion: 1: 161-245m, 2: 81-160m, 3: 41-80m, 4: 21-40m, 5: 0-20m	5	5	5	3
	J=Nombre d'espèces apparues	24	34	18	7					
	K=Nombre d'espèces total dans la plantation (plantées + apparues)	27	38	22	41					
	Diversité spécifique apparue: $J*100/K$	89%	89%	81%	17%	Indice: 1: 0-20%, 2: 21-40%, 3: 41-60%, 4: 61-80%, 5: >80	5	5	5	1
	L=Nombre de recrûs issus des milieux alentours	451	1245	174	29					
	M=Nombre total de recrûs sur la plantation	2424	7880	748	3759					
	Enrichissement de la plantation: $L*100/M$	19%	16%	23%	1%	Indice: 1:0-15%, 2: 16-30%, 3: 31-40%, 4: 41-60%, 5: >60%	2	2	2	1

Echanges avec l'extérieur	Connectivité entre habitats (distance de la zone tampon possédant une superficie de végétation (MD, MPGd ou MP) \geq à celle de la plantation)	20m	20m	40m	80m	Voir figure 3.3. Indice: 1: > 160m, 2: 0-160m, 3: 0-80m, 4: 0-40m, 5: 0-20m.	5	5	4	3
	Flux de dispersion à l'échelle du paysage (distance lisière à lisière entre plantation et MD, MPGd ou MP le plus proche)	6m	6m	13m	45m	En relation avec les distances de dispersion: 1: 161-245m, 2: 81-160m, 3: 41-80m, 4: 21-40m, 5: 0-20m	5	5	5	3
	J=Nombre d'espèces apparues	24	34	18	7					
	K=Nombre d'espèces total dans la plantation (plantées + apparues)	27	38	22	41					
	Diversité spécifique apparue: $J*100/K$	89%	89%	81%	17%	Indice: 1: 0-20%, 2: 21-40%, 3: 41-60%, 4: 61-80%, 5: >80	5	5	5	1
	L=Nombre de recrûs issus des milieux alentours	451	1245	174	29					
	M=Nombre total de recrûs sur la plantation	2424	7880	748	3759					
	Enrichissement de la plantation: $L*100/M$	19%	16%	23%	1%	Indice: 1:0-15%, 2: 16-30%, 3: 31-40%, 4: 41-60%, 5: >60%	2	2	2	1

ANNEXE 6 - Proportion (%) d'individus par classe de hauteur des espèces ligneuses présentes sur chaque plantation et en maquis arbustif dense (MD, proportion moyenne avec N=30). Même principe que pour l'Annexe 5, les informations des lignes blanches sont utilisées pour obtenir les résultats des lignes grises qui les suivent. (L'indice 1, 2, 3, 4 ou 5 correspond à un pourcentage respectivement compris entre 0 et 5%, 6 et 15%, 16 et 40%, 41 et 80%, et supérieur à 80%).

Planta- tion (surfac e)		Classe de hauteur des espèces ligneuses (en cm)						Moyenne des indices
		<10 cm]10-50] cm]50-100] cm]100-150] cm]150-200] cm	>200 cm	
A1 (504 m²)	Nombre d'individus par plantation	2426	29	63	47	31	12	1
	Densité au m²	4,813	0,058	0,125	0,093	0,062	0,024	
	Pourcentage par rapport au MD du nombre d'individus par m² (densité)	25%	1%	3,13%	3%	2%	0,48%	
	Indice par classe de hauteur	3	1	1	1	1	1	
A2 (1104 m²)	Nombre d'individus par plantation	7714	135	102	80	72	117	1
	Densité au m²	6,987	0,122	0,092	0,072	0,065	0,106	
	Pourcentage par rapport au MD du nombre d'individus par m² (densité)	37%	2%	2,31%	2%	2%	2%	
	Indice par classe de hauteur	3	1	1	1	1	1	
A3 (600 m²)	Nombre d'individus par plantation	753	25	64	43	62	16	1
	Densité au m²	1,255	0,042	0,107	0,072	0,103	0,027	
	Pourcentage par rapport au MD du nombre d'individus par m² (densité)	7%	1%	2,67%	2%	3%	0,53%	
	Indice par classe de hauteur	2	1	1	1	1	1	
B (700 m²)	Nombre d'individus par plantation	3751	117	157	80	42	4	2
	Densité au m²	5,359	0,167	0,224	0,114	0,060	0,006	
	Pourcentage par rapport au MD du nombre d'individus par m² (densité)	28%	2%	6%	4%	2%	0,11%	
	Indice par classe de hauteur	3	1	2	1	1	1	
	Densité au m² au sein du maquis arbustif dense (MD)	19	7	4	3	3	5	

Annexe 7 - Nombre de recrûs par plantation issus strictement des espèces des milieux environnants (non surlignées) ou pouvant être issus strictement des espèces plantées (surligné en noir) et/ou des espèces des milieux environnants (surligné en gris).

Espèce	A1	A2	A3	B
<i>Acridocarpus austrocaledonicus</i>				1
<i>Alphitonia neocaledonica</i>	6		14	742
<i>Alstonia coriacea</i>		6		12
<i>Alyxia glaucophylla</i>	8	3	5	
<i>Austrobuxus carunculatus</i>				8
<i>Austrobuxus cf carunculatus</i>		1		
<i>Codia cf spatulata</i>	16			
<i>Coelospermum crassifolium</i>	2	5		1
<i>Comptonella drupacea</i>	3	92	4	1
<i>Cordyline neocaledonica</i>	3	2		
<i>Cupaniopsis sp.</i>				1**
<i>Dacrydium araucarioides</i>	2	51	6	
<i>Deplanchea speciosa</i>	1	10	2	
<i>Dodonaea viscosa</i>		3*		1691
<i>Dracophyllum cf verticillatum</i>		3		
<i>Flagellaria neocaledonica</i>		2		3
<i>Gardenia aubryi</i>		13		10
<i>Geniostoma densiflorum</i>	16	164	7	10
<i>Grevillea exul subsp. rubiginosa</i>	13	644	169	162
<i>Guioa cf glauca</i>		12		
<i>Guioa cf villosa</i>		4		
<i>Gymnostoma deplancheanum</i>	1960	4499	328	35
<i>Hibbertia lucens</i>		76		81
<i>Hibbertia pancheri</i>	15	39		
<i>Joinvillea plicata subsp. plicata</i>				44
<i>Lomandra insularis</i>	2	6		6
<i>Metrosideros nitida</i>	140	10	73	
<i>Myodocarpus fraxinifolius</i>		1492	1	48
<i>Myodocarpus involucratus</i>		5	1	
<i>Myrsine cf asymetrica</i>	5	24		
<i>Oxera neriifolia subsp. neriifolia</i>				1
<i>Pancheria billardierei</i>	5	47	21	
<i>Pancheria hirsuta</i>	104	4		
<i>Pandanus cf lacuum</i>		1		
<i>Pittosporum cf deplanchei</i>		5	3	
<i>Pleioluma baueri</i>	3	6		
<i>Polyscias cf dioica</i>	3	9		
<i>Polyscias pancheri</i>	33	68	4	
<i>Sannantha leratii</i>			1	
<i>Scaevola balansae</i>	18	97	7	774
<i>Solmsia calophylla</i>	11	354	10	2
<i>Sp. (stade cotyledon)</i>		24	1	5

<i>Stenocarpus cf umbelliferus</i>	1	1	1	90
<i>Styphelia cf veillonii</i>	49	80	8	6
<i>Syzygium ngoyense</i>			77	21
<i>Tarenna hexamera</i>				4
<i>Tristaniopsis cf guillaini</i>	4	1	1	
<i>Wikstroemia indica</i>	1	17	4	
Total général	2424	7880	748	3759

* A noter que la présence de *D. viscosa* par colonisation sur la plantation A2 peut être expliquée par la proximité d'individus plantés dans la zone proche mais non retrouvés naturellement dans les milieux environnants.

Annexe 8 - Distances minimales entre la plantation et le premier semencier potentiel pour les espèces ayant colonisé chaque plantation et issues du milieu naturel (non plantées). Les espèces surlignées en gris sont endozoochores, celles surlignées en noir sont barochores et celles non surlignées sont anémochores.

Espèces ayant colonisé chaque plantation et issues du milieu naturel (non plantées)	A1	A2	A3	B
<i>Acridocarpus austrocaledonicus</i>				50m
<i>Alphitonia neocaledonica</i>	5m		22m	
<i>Alstonia coriacea</i>		7m		
<i>Alyxia glaucophylla</i>	10m	25m	22m	
<i>Austrobuxus cf caranculatus</i>		32m		
<i>Codia cf spatulata</i>	8m			
<i>Coelospermum crassifolium</i>	3,5m	15m		60m
<i>Comptonella drupacea</i>	4m	5m	22m	
<i>Cordyline neocaledonica</i>	75m	160m		
<i>Dacrydium araucarioides</i>	40m	25m	47m	
<i>Deplanchea speciosa</i>	8m	2m	28m	
<i>Dodonaea viscosa</i> *		10m		
<i>Dracophyllum cf verticillatum</i>		6m		
<i>Flagellaria neocaledonica</i>		18m		130m
<i>Gardenia aubryi</i>		20m		
<i>Geniostoma densiflorum</i> Baill. var. <i>densiflorum</i> **	12m	10m	22m	80m
<i>Guioa cf glauca</i>		27m		
<i>Guioa cf villosa</i>		21m		
<i>Hibbertia lucens</i>		14m		
<i>Hibbertia pancheri</i>	13m	12m		
<i>Lomandra insularis</i>	8m	22m		130m
<i>Metrosideros nitida</i>	15m	20m	10m	
<i>Myodocarpus involucratus</i>		7m	32m	
<i>Myrsine cf asymetrica</i>	10m	21m		
<i>Oxera neriifolia</i> subsp <i>neriifolia</i>				120m
<i>Pancheria billardierei</i>	8m	5m	20m	
<i>Pancheria hirsuta</i>	5m	12m		
<i>Pandanus cf lacuum</i>		88m		
<i>Pittosporum cf deplanchei</i>		20m	23m	
<i>Pleioluma baueri</i>	12m	15m		
<i>Polyscias cf dioica</i>	6m	16m		
<i>Polyscias pancheri</i>	13m	12m	38m	
<i>Sannantha leratii</i>			31m	
<i>Scaevola cf balansae</i>	10m	12m	12m	
<i>Solmsia calophylla</i> **	9m	20m	53m	250m

<i>Stenocarpus cf umbelliferus</i>	7,5m	18m	20m	
<i>Styphelia cf veillonii</i>	8m	10m	22m	
<i>Tristaniopsis sp cf guillaini</i>	10m	43m	50m	
<i>Wikstroemia indica</i>	10m	17m	45m	

* A noter que la présence de *D. viscosa* par colonisation sur la plantation A2 peut être expliquée par la proximité d'individus plantés dans la zone proche mais non retrouvés naturellement dans les milieux environnants.

** Les espèces *Geniostoma densiflorum* et *Solmsia calophylla* ont été définies comme barochores à partir de leur type de fruits cependant les distances de dispersion suggèrent que ces espèces sont probablement dispersées par les animaux.

Annexe 9 – Tableau des relevés de terrain et génotypage.

Position sur site A			sexe	Tailles des individus		Locus étudiés								
Sous-parcelle	N° rang	N° ligne		Diamètre au collet (mm)	Hauteur (cm)	111	4216	498	962	4223	4225	4228	472b	767
A1	1	1		24,26	105	118_127	245_247	130_148	352_355	299_299	276_296	307_313	138_180	223_245
	1	4		10,74	52	118_121	245_247	142_148	352_355	307_307	272_284	319_329	138_174	233_235
	1	10	M	49,59	257	118_121		142_142	340_355	305_305	280_282	301_329	144_144	223_223
	2	7	F	29,26	123	109_118	247_247	130_148	340_355	313_313	290_290	307_307	138_172	223_233
	2	9		8,55	30	109_118	247_249	148_148	340_352	301_305	276_276	329_335	166_170	223_225
	3	1	M	32,84	105	121_127	245_247	130_148	352_355	301_301	288_296	307_315	138_138	223_247
	3	3	M	57,29	211	118_118	245_247	130_139	340_355	301_301	284_284	299_303	138_138	223_223
	3	6	F	22,28	89	127_127	241_251	130_142	352_358	305_305	272_276	307_323	148_174	223_235
	3	8	F	58,6	215	118_118	245_247	127_148	349_355	305_305	272_284	325_327	138_138	227_233
	3	11	F	39,55	160	118_118	245_247	130_148	340_352	305_305	272_290	299_315	138_168	223_223
	4	5	M	55,8	182	118_118	247_247	136_148	340_355	307_307	272_284	299_315	138_138	223_233
	4	9	F	59,41	260	118_118	245_247	127_130	352_352	307_307	282_290	329_333	138_162	223_223
	5	1		26,87	107	118_121	247_247	148_148	352_352	305_305	272_290	317_329	138_138	223_233
	5	3		46,26	150	118_118	241_241	130_148	340_355	305_305	272_284	299_315	138_168	223_223
	5	4		45,16	172	118_127	247_247	142_148	340_352	307_307	284_290	299_329	138_140	233_253
	5	6	mort											
	5	8	M	49,53	195	109_118	247_247	148_148	340_352	311_313	278_296	307_315	138_138	233_245
	5	11		25,02	92	109_118	247_247	130_130	352_352	311_311	276_286	307_321	138_138	245_245
	5	12		31,79	150	118_121	247_247	130_148	340_355	311_311	288_290	307_307	138_174	223_233
	6	4		10,44	61	118_121	247_247	142_148	352_352	305_305	272_290	299_317	138_138	233_235
	6	5	M	41,33	174	121_127	247_247	148_148	343_352	305_305	272_272	285_333	138_154	235_259
	6	9		18,89	85	118_118	247_247	130_148	352_355	303_303	256_272	297_299	138_138	225_233
	6	12	M	45,11	175	121_127	245_247	130_130	355_355	305_305	282_284	299_329	138_140	223_223
	7	3	F	54,22	167	121_127	245_247	136_148	352_358	301_301	282_290	299_299	138_138	233_233
	7	7	F	36,43	153	109_118	247_247	130_130	355_355	307_307	282_284	299_317	138_164	223_223


7	10		33,89	211	121_121	247_247	130_148	352_358	311_311	274_282	297_299	140_164	223_223
7	12		38,92	174	118_121	245_247	148_148	340_352	305_307	272_288	299_307	138_142	223_243
7	13		13,02	51,5	118_127	247_247	136_148	349_352	305_305	272_280	285_307	138_138	223_235
8	1		22,41	89	121_127	245_247	130_130	352_355	305_307	272_284	299_299	138_148	223_253
8	4	M	26,75	99	118_127	245_247	130_148	340_352	305_305	282_288	301_329	138_174	223_233
8	5		13,26	53	121_127	247_247	130_142	352_358	307_307	272_276	289_299	148_174	223_235
8	7	M	24,58	76,5	121_127	245_247	136_148	340_352	305_305	272_288	299_315	138_158	233_235
8	11	F	98,71	185	118_127	247_249	148_148	343_352	301_301	272_288	289_299	138_142	233_243
9	4		17,51	62	118_127	245_247	130_136	340_352	303_303	272_288	299_309	138_148	223_255
9	10	F	16,39	68	127_130	247_247	130_142	352_352	307_307	272_282	299_315	138_162	223_223
9	12		24,24	121	118_127	247_247	127_130	352_355	307_307	284_284	299_315	134_138	223_223
10	2		28,65	91	109_118	247_247	130_136	340_352	305_305	274_284	315_333	144_174	223_233
10	4		19,09	59	118_121	247_247	130_130	352_355	305_305	280_288	307_333	138_174	235_243
10	11	mort											
11	5		28,65	90	118_121	247_247	136_148	340_349	305_305	268_274	283_307	138_174	233_243
11	7		11,14	55	109_118	245_245	136_148	349_352	305_305	272_288	311_329	138_164	225_233
11	13	M	20,85	89	121_130	241_241	130_136	340_349	305_305	268_280	311_333	158_174	245_247
12	2	M	30,42	110	118_121	247_247	130_136	340_352	305_307	272_282	299_333	138_168	223_243
12	4		22,47	85	118_118	247_247	127_136	340_355	305_305	272_288	297_301	144_158	231_253
12	6		20,42	108	118_127	247_247	136_148	352_352	305_307	274_288	299_315	138_140	233_239
12	11		22,51	82	130_130	247_247	127_136	340_343	305_305	272_282	283_333	170_170	223_245
12	13	M	28,96	103	121_127	247_247	148_148	352_352	305_307	262_272	297_299	138_158	223_233
13	1	F	37,45	146	121_127	245_247	130_136	340_355	305_307	272_284	299_299	138_138	223_223
13	4	F	28,88	92	118_130	245_247	130_148	340_352	307_307	284_288	303_327	138_138	223_233
13	7		35,46	114	118_127	247_247	148_148	352_355	305_305	272_272	285_285	138_164	223_235
13	9		26,18	83	109_118	247_247	148_148	352_352	307_307	276_288	309_329	138_138	223_233
13	12	F	23,43	77	109_118	245_247	130_130	340_355	305_305	268_284	329_333	138_158	223_243
14	1	F	19,02	84	112_121	247_249	136_148	352_355	305_305	282_282	303_329	144_162	223_223

A2

14	4	M	47,12	200	109_118	245_247	130_136	340_355	307_307	272_284	285_329	138_166	223_243
14	6	F	26,8	78	118_118	247_249	130_148	343_358	305_305	280_282	283_283	164_170	223_223
14	12	F	22,65	121	121_127	245_247	127_148	352_355	305_307	288_288	329_333	138_158	223_233
15	3		13,37	40	121_121	247_247	136_148	349_355	307_307	276_276	301_301	138_160	239_245
16	1	M	22,08	74,5	121_127	245_247	148_148	352_352	303_307	282_288	301_307	138_174	233_233
16	4		34,35	130	118_121	247_247	130_148	352_358	305_305	272_288	299_329	138_160	223_223
16	6		12,73	47	118_118	247_247	142_148	352_358	305_305	272_276	289_305	138_158	223_255
16	10	M	85,38	250	118_118	245_247	148_148	340_352	301_301	284_288	299_303	138_138	233_233
16	13		20,97	61,5	118_121	247_247	130_142	352_352	307_307	272_288	299_317	138_174	223_235
17	2		19,2	61	121_121	247_247	136_163	349_352	301_301	282_288	301_305	138_160	223_235
17	5	M	24,3	66	127_127	247_247	148_148	352_355	305_305	276_288	299_305	138_174	223_233
18	1		18	54	121_127	247_247	130_142	340_340	307_307	272_284	285_309	138_158	223_235
18	5		14,08	46	118_130	247_247	130_130	349_355	305_305	276_280	297_309	142_164	223_243
18	7		11,45	55,5	109_118	247_247	136_148	349_355	305_305	276_280	283_317	128_138	223_223
18	13		23,54	75	109_118	247_249	142_148	355_355	305_307	284_290	299_303	138_138	233_233
19	4	F	45,86	150	118_121	245_247	148_148	340_352	305_307	272_288	297_329	138_162	223_233
19	6		29,91	89	118_121	247_247	130_136	340_355	307_307	272_282	305_347	148_154	223_251
19	11		16,13	48	118_121	245_247	130_148	355_358	307_307	280_284	311_329	138_158	223_223
1	8	F	15,41	175	112_121	245_247	130_148	349_352	307_307	276_290	301_305	138_138	223_251
1	11	M	71,32	189	118_121	245_247	130_130	340_352	301_301	274_290	317_329	138_138	223_223
2	4	F	76,67	238	118_118	247_247	130_142	352_358	301_301	276_290	289_329	138_138	223_237
2	5	M	57,68	266	121_127	247_247	142_148	340_340	301_303	272_272	289_301	138_138	223_223
2	7		52,96	228	118_118	247_247	148_148	352_352	305_307	272_290	289_329	138_138	223_233
3	1		127	379	121_121	247_247	127_136	340_349	305_305	268_280	311_333	170_174	223_223
3	2	M	153	394	118_118	247_247	130_148	343_355	305_305	282_290	285_285	170_174	223_245
3	6	M	65,91	199	118_121	245_247	130_136	349_352		274_290	301_329	138_160	223_235
3	10		43,39	156	121_121	247_249	130_130	340_355	307_307	284_284	327_329	138_168	223_223
3	12		43,02	193	118_127	245_247	136_148	352_352	305_305	274_290	301_301	138_140	235_241

4	1	F	159	400	118_118	245_247	127_130	340_352	303_303	268_290	301_333	138_158	235_245
4	3		40.82	331	121_127	247_247	130_136	349_352	305_305	282_290	301_307	138_138	223_223
4	9		39.09	149	118_118	245_247	139_148	340_352	305_307	274_290	301_333	138_138	223_233
5	3		83	274	109_118	247_247	130_148	340_352	307_307	272_284	299_309	138_158	233_235
5	6		51.51	160	118_121	247_247	148_148	352_358		272_276	299_317	138_138	223_233
5	9	M	99	286	118_118	247_247	136_139	352_355	305_305	282_290	285_307	138_148	223_243
6	4	F	72.63	269	118_121	247_247	130_142	352_352	305_305	272_288	301_301	138_140	223_223
6	11		54.73	195	118_118	245_247	130_148	352_355	307_307	280_284	303_329	138_138	223_235
7	1	F	21.14	300	118_127	245_247	130_148	352_355	305_307	280_284	299_305	138_158	223_223
7	2	M	127	345	121_127	247_247	130_148	340_352	301_301	276_284	289_299	138_174	223_233
7	3	F	97,8	309	118_121	245_247	136_148	355_355	301_301	272_284	299_309	138_160	233_235
7	11		19.62	82	118_121	247_247	127_130	355_367	305_305	274_284	329_341	148_158	223_231
8	5		44,98	170	109_118	247_247	142_148	352_355	307_307	282_284	299_299	138_140	223_233
8	7		28	140	118_121	247_247	136_148	355_355	307_307	280_282	299_299	138_140	233_241
9	3	M	57,56	260	109_118	247_247	136_139	349_355	301_301	272_282	285_297	134_138	207_223
9	6	F	54,74	202	118_121	245_247	130_136	352_355	307_307	272_288	299_309	138_158	233_233
10	4	M	74,78	280	109_118	247_247	130_139	343_352		276_288	297_299	138_156	223_239
10	8	F	38,76	144	121_127	243_247	130_148	352_358	307_307	274_274	299_305	134_138	225_225
10	12	F	47,58	190	118_127	249_249	130_136	340_361	305_305	278_278	299_309	138_138	223_237
11	1	F	50,92	170	118_121	245_247	127_130	340_355	307_307	272_284	315_329	138_162	223_223
11	5		87,56	273	118_118	247_247	136_148	355_355	307_307	272_288	307_329	128_138	223_233
11	11	F	36,48	157	118_118	247_247	130_136	352_355	305_305	280_282	297_329	138_166	223_223
12	2	F	46,43	190	118_121	247_247	127_139	340_358	311_311	276_282	283_289	138_158	233_235
12	3		46,19	172	121_127	247_247	148_148	352_355	305_305	272_288	299_305	138_158	223_233
12	9		22,08	70	118_121	245_247	148_148	340_352	305_307	272_288	311_329	138_138	223_233
13	1		46,71	154	121_127	247_247	130_136	355_355	307_307	282_284	299_315	138_138	223_223
13	8		47,47	204	109_118	247_247	130_142	352_352	303_303	282_288	329_333	138_162	229_233
13	10	F	61,8	266	118_127	245_247	148_148	340_355	305_307	284_284	299_307	138_138	233_243

14	4	F	56,2	226	118_118	245_247	127_136	349_361	305_311	270_272	301_307	146_158	233_235
14	6		47,34	193	118_118	247_247	130_136	352_355	307_307	272_288	309_329	138_160	223_233
15	2	M	69,01	178	118_118	247_247	139_148	352_355	305_307	280_282	285_299	138_166	223_233
15	7	M	45,9	220	118_118	247_247	130_148	355_355	303_303	284_288	329_333	138_158	233_245
16	1	M	58,35	243	118_127	247_247	127_148	349_352	305_307	272_282	301_301	148_164	223_223
16	5		32,7	115	118_121	247_247	127_136	340_343	305_305	268_282	311_333	158_170	245_247
16	9		21,98	107	118_118	247_247	127_130	340_355	305_305	282_284	283_303	138_160	235_245
16	11	F	61,03	267	118_121	247_247	130_136	340_352	307_307	272_288	299_327	138_168	223_233
16	12	M	40,27	147	121_127	245_247	130_130	343_352	307_307	272_288	297_297	138_154	233_247
17	4	M	39,83	172	118_121	247_247	127_136	340_355	305_305	272_284	299_341	144_168	223_231
17	6		36,54	136	118_121	247_247	130_148	352_355		282_288	311_329	138_160	223_225
18	2	M	150,03	293	121_121	247_247	136_148	337_343	305_305	272_286	329_333	162_162	223_223
18	5		35,35	144	118_118	247_247	136_148	352_355	301_301	272_284	299_315	138_162	233_341
18	9		37,68	192	115_115	245_247	139_148	355_355	301_303	272_272	307_315	134_140	223_257
19	3	F	89,19	326	118_127	245_247	148_148	352_355	301_301	282_284	285_299	138_138	223_233
19	7		61,8	208	118_118	247_247	136_148	352_352	305_305	272_272	301_301	128_138	233_233
19	8		29,59	100	118_121	245_247	121_130	352_352	311_311	274_288	301_329	128_138	223_223
19	10	F	49,11	211	118_118	245_245	130_136	352_355	307_311	278_288	303_329	138_140	223_223
19	11	M	54,42	173	118_127	245_247	127_148	340_352	303_303	272_288	329_333	138_140	223_233
19	12	M	42,35	175	118_118	245_247	127_130	352_355	307_307	280_282	329_333	138_140	223_223
21	1	M	92,8	345	121_130	247_247	130_136	349_355	305_305	280_288	283_283	158_174	223_247
21	4	F	113,22	318	118_127	245_247	127_130	340_355	305_307	268_284	283_299	138_174	223_223
21	6	M	81,58	262	118_118	247_247	130_136	340_352	307_307	274_288	295_299	128_138	223_233
21	10		19,72	98	118_121	247_247	130_142	352_358	305_307	276_288	317_329	128_138	223_235
22	2	M	94	330	118_118	247_247	130_136	349_355	307_307	282_284	329_333	138_138	223_223
22	8		26,58	92	112_121	247_247	130_142	340_352	301_303	268_272	289_333	128_138	223_223
22	9		36,1	202	118_118	245_247	148_148	340_352	305_307	272_288	297_299	138_138	223_233
22	11	M	57,54	265	118_118	245_247	130_142	352_352	307_307	282_288	299_315	138_162	223_223

A2 (suite)	23	3	F	104,24	264	118_130			340_352	307_307	272_288	329_333	138_162	223_233
	23	7		50,21	195	118_118	245_247	148_148	352_355	301_301	272_284	289_299	138_138	223_233
	24	5	F	58,84	400	118_121	247_247		355_355		256_284	299_317	138_138	223_233
	24	10	F	90,87	392	121_121	247_247	136_136	352_355	305_305	274_294	285_285	138_148	223_235
	25	2	M	140,55	408	127_127	247_247	127_130	349_355	301_301	272_284	299_307	138_158	233_247
	25	6		52,92	250	118_118	247_247	130_142	340_352	307_307	272_282	331_333	138_140	223_245
	25	12	M	83,17	277	118_127	245_247	130_163	352_355	301_301	284_288	309_329	138_160	223_227
	26	3	F	103,6	271	118_130	245_247	130_142	340_355	307_307	272_284	315_329	138_162	223_233
	26	5	M	53,99	285	118_118	245_247	142_148	352_352	305_307	272_288	289_299	138_174	233_235
	26	7	M	68,92	202	118_118	247_247	136_139	340_355		284_284	299_309	138_138	223_245
	26	10		50,33	190	127_127	247_247	130_130	352_355	301_301	272_284	299_307	138_158	223_223
	27	1	F	146,42	355	118_118	245_245	130_148	355_355	303_303	272_284	295_299	138_138	223_233
	27	2	M	107,16	331	121_127	247_247	142_148	340_352	305_305	272_274	289_297	138_138	223_223
	27	4	M	70,53	298	121_127	247_247	130_136	340_352	307_307	270_272	299_299	138_168	223_223
	27	9		32,67	144	121_121	247_247	127_130	346_349	301_301	280_288	285_309	162_168	245_253
	28	8	M	48,83	279	121_130	247_247	130_142	352_352	303_303	272_282	299_315	138_162	223_223
	28	9	F	39,3	155	118_121	245_247	136_148	352_355	305_305	274_284	299_329	138_164	233_241
	28	12		40,96	243	118_118	247_247	142_148	352_352	305_305	272_288	289_329	138_138	233_235
	29	6	F	52,19	219	109_118	247_247	130_148	355_355	305_305	282_284	313_329	134_138	223_233
	30	10		44,62	180	115_115	247_247	127_148	343_352		272_288	329_329	138_168	223_233
	31	3												
	31	6	M	67,61	208	121_121	247_247	136_148	340_352	305_305	272_272	289_299	128_138	223_235
	31	10		30,23	108	127_127	247_247	136_142	340_349	305_305	272_282	289_333	138_138	223_223
	32	9	M	26,43	95	118_118	247_247	130_148	340_355	303_303	272_284	305_305	128_138	231_233
	32	12	F	40,25	185	127_127	245_247	130_148	355_355	303_303	256_282	299_299	138_174	223_227
	33	5		62,43	217	118_127	247_247	130_148	355_355	301_303	262_284	299_327	138_138	233_245
	33	8	M	22,61	93	118_118	247_247	136_148	355_355	307_307	282_284	293_329	138_154	223_233
	33	11		31,56	150	121_121	247_247	130_142	352_352	305_307	272_272	289_347	138_138	223_235

A3

1	1	F	80,2	270	118_121	247_247	127_130	352_355	303_311	272_274	307_307	128_138	223_237
1	3	F	65,9	270	121_121	247_247	148_148	352_355	303_303	276_276	305_305	138_140	223_237
1	6	M	14,3	200	118_118	247_247	148_148	346_355	301_301	282_284	283_301	138_148	223_223
1	9		22,5	116	121_121	247_247	130_130	355_355	305_305	276_280	285_301	142_142	223_243
1	13	F	38,7	140	109_118	247_247	136_139	340_349	301_303	272_278	289_289	140_176	225_235
2	8		22,4	120	109_118	247_247	127_136	349_358	305_305	276_280	299_311	138_138	245_245
3	2		53,45	240	121_121	247_247	148_148	340_349	305_305	278_280	301_335	148_152	235_235
3	4		42,1	165	112_112	247_247	130_136	352_355	305_305	280_290	307_309	154_170	223_241
3	7		28	140	118_121	247_247	127_130	352_355	303_303	272_288	307_309	140_160	225_245
3	10	F	50	200	121_121	247_249	127_136	355_355	305_305	276_286	301_327	134_142	245_247
3	12		49	200	118_121	247_247	130_130	355_355	305_305	272_278	285_285	164_164	237_245
3	14		21	115	121_121	247_249	136_148	340_349	305_305	272_274	297_329	138_164	223_245
4	1		55	185	112_121	247_247	136_142	340_355	301_303	270_288	305_317	138_162	231_235
4	5		24	125	118_121	247_247	136_148	352_355	305_305	256_272	301_305	138_140	223_245
4	7	M	137	75	118_121	247_247	142_148	352_355	305_305	282_282	295_307	138_148	245_251
4	9		31	110	118_118	247_247	130_148	340_352	305_305	272_280	311_333	134_168	223_255
5	3	M	56,8	180	112_112	247_247	148_148	337_355	305_305	270_278	311_313	138_160	223_223
5	9	M	63,6	190	121_121	245_245	136_136	340_349	311_311	272_272	317_329	138_158	235_245
5	13		36	160	118_121	247_247	130_136	349_355	301_301	274_282	299_329	138_146	225_233
6	1	M	34	130	118_118	247_247	136_136	346_355	305_305	278_282	311_313	158_160	241_255
6	5		23,88	110	121_130	247_247	136_148	343_352	311_311	262_282	283_307	138_144	245_251
6	15		38	115	121_121	247_247	130_136	355_355	305_305	274_274	299_309	138_152	233_235
7	2	F	28	120	118_121	247_247	130_136	349_355	305_305	274_278	285_305	140_168	233_243
7	4	M	49,7	200	112_112	247_247	130_136	355_355	305_305	272_282	309_309	164_170	241_251
7	7	M	29	160	112_121	247_249	136_148	355_355	305_311	256_282	303_303	140_164	223_223
7	10		22	80	112_118	247_247	136_139	340_355	305_305	272_280	303_309	158_170	241_241
7	12	F	31	155	118_118	247_247	127_130	355_355	305_305	272_286	309_315	148_168	223_255
8	5		21	100	121_121	247_247	136_136	340_352	305_305	262_268	303_303	162_170	241_255

A3 (suite)	8	9	M	42	185	118_118	247_247	127_136	349_349	303_303	272_292	303_345	160_168	223_225
	8	13	M	23,6	90	112_130	247_247	136_136	352_355	303_305	270_274	297_325	142_144	223_245
	9	3	M	112	215	118_118	247_247	130_148	349_355	301_303	270_272	317_339	146_164	223_225
	9	8		20	100	118_121	247_247	136_145	355_355	303_303	284_288	301_313	134_138	223_253
	9	10		37	150	112_118	247_247	136_148	355_355	305_305	270_278	307_309	158_160	223_241
	9	15		34	130	118_118	247_247	136_148	355_355	305_305	272_276	297_313	162_170	227_241
	10	1	M	33	120	118_121	247_249	145_145	346_355	305_305	278_284	303_327	134_146	233_239
	10	7		18	80	121_121	247_247	130_148	352_355	305_305	278_280	285_317	138_164	233_253
	10	11		29	155	118_121	247_247	127_136	349_352	305_305	274_278	301_301	138_138	227_235
	11	2	M	69	220	118_121	247_247	127_136	349_352	305_305	274_278	301_301	138_138	223_223
	11	5		29	140	121_121	247_247	136_136	340_343	305_305	282_286	309_319	144_162	223_223
	11	6		27	110	118_121	247_247	127_136	349_355	307_307	284_288	301_329	166_166	235_241
	11	9		17	70	112_112	247_247	139_148	352_355	303_303	276_284	295_295	126_158	223_241
	11	12		27	100	121_121	247_247	130_136	343_343	305_305	272_288	301_309	158_162	223_223
	12	3	F	72	240	118_121	247_247	130_148	352_355	305_311	280_282	285_303	138_168	223_253
	12	8	M	33	160	118_118	247_247	127_136	355_355	305_305	272_272	301_301	140_148	235_255
	12	9		28	100	118_118	247_247	139_148	352_352	305_305	282_282	299_315	140_140	223_245
	12	12		25	130	121_121	247_247	136_139	340_349	305_305	282_282	309_317	140_168	223_231
	12	14		35	130	121_121	247_247	130_139	355_355	305_305	278_278	285_309	158_168	233_251
	13	2	M	44	190	118_121	245_247	130_136	352_355	301_301	256_280	291_297	160_164	223_223
	13	4		21	80	112_121	247_247	127_136	349_355	301_303	270_278	279_305	138_158	223_223
	13	7	F	21	80	112_121	247_249	136_148	349_352	305_305	272_274	307_331	140_152	235_257
	14	8	F	62	200	121_121	247_247	136_148	340_340	301_301	284_284	309_333	158_160	225_245
	14	12		25	100	121_121	247_247	136_151	352_352	301_301	278_278	295_299	142_144	233_243
	15	2		17	90	118_118	245_247	127_148	340_349	303_303	270_286	289_317	154_158	223_253
	15	6		23	90	118_118	247_247	130_148	340_352	307_307	270_270	285_299	138_146	225_249
	15	9	F	44	160	121_127	247_247	148_148	352_352	305_305	272_280	291_303	138_138	225_235
	15	11	F	33	130	118_121	247_247	148_148	343_352	305_305	272_282	291_291	140_144	223_227

15	13	M	32	130	118_118	247_247	148_148	352_352	305_305	272_288	327_329	138_144	227_245
16	1		60	165	118_121	247_247	130_136	355_355	305_305	278_280	285_295	142_168	223_245
16	4		21	100	118_121	247_247	130_139	349_355	301_303	274_280	297_301	158_168	235_245
16	6	M	24	55	118_121	245_249	145_148	340_355	305_305	272_282	307_313	138_160	243_243
16	7		35	170	118_121	247_247	130_136	340_343	301_301	280_286	315_317	138_158	223_233
16	10		25	130	118_121	247_247	148_148	343_355	307_311	280_280	297_297	152_164	223_223
16	14	M	25	145	109_118	247_247	130_136	349_355	305_305	280_284	297_309	144_164	223_245

Les individus morts avant les relevés ont une croix au niveau de leur case relative à l'information sur le genre et les cases relatives aux tailles et génotype sont grisées. Ceux morts durant l'étude ont leur case relative à l'information sur le genre barrée d'une diagonale.

Les cases vides correspondent à des informations manquantes.

Annexe 10 – Tableau de répartition des allèles par locus et par population étudiée.

Localisations	Site A																												Sites xtérieurs (non A)									
Populations	Juvéniles sur A										Plantés sur A										Reproducteurs natifs de A										tous stades confondus							
Loci	111	4216	498	962	4223	4225	4228	472b	767	111	4216	498	962	4223	4225	4228	472b	767	111	4216	498	962	4223	4225	4228	472b	767	111	4216	498	962	4223	4225	4228	472b	767		
Allèles	109	241	127	304	299	256	279	126	207	109	241	121	337	299	256	279	126	207	109	239	127	337	301	256	283	126	207	112	245	127	337	301	260	283	134	211		
	112	243	130	328	301	262	283	128	211	112	243	127	340	301	262	283	128	223	112	241	130	340	303	262	285	134	219	115	247	130	340	303	262	285	138	213		
	118	245	136	337	303	264	285	134	219	115	245	130	343	303	268	285	134	225	115	243	136	343	305	268	289	138	223	118	249	133	343	305	266	287	140	217		
	121	247	139	340	305	266	289	138	223	118	247	136	346	305	270	289	138	227	118	245	139	349	307	270	291	140	225	121		136	346	307	270	289	142	221		
	124	249	142	343	307	268	291	140	225	121	249	139	349	307	272	291	140	229	121	247	142	352	309	272	293	142	227	124		139	349	311	272	291	146	223		
	127	251	145	346	309	270	295	142	227	127	251	142	352	311	274	293	142	231	124	249	145	355	311	274	295	144	229	130		142	352		274	295	148	225		
	130		148	349	311	272	297	144	229	130		145	355	313	276	295	144	233	127	257	148	358		276	297	146	231			145	355	276	297	150	227			
	133		163	352	313	274	299	146	231			148	358		278	297	146	235	130		163			278	299	148	233			148	358	278	299	152	229			
			166	355		276	301	148	233			151	361		280	299	148	237			166			280	301	150	235			154	361		280	301	154	233		
				358		278	303	150	235			163	367		282	301	152	239						282	303	152	237			175		282	303	158	235			
				361		280	305	152	237						284	303	154	241						284	305	154	239					284	305	160	237			
						282	307	154	239						286	305	156	243						286	307	158	241					286	307	162	239			
						284	309	158	241						288	307	158	245						288	309	160	243					288	309	164	241			
						286	311	160	243						290	309	160	247						290	311	162	245					290	311	166	245			
						288	313	162	245						292	311	162	249						292	313	164	247					292	313	168	247			
						290	315	164	247						294	313	164	251						315	166	249						315	170	251				
						292	317	166	249						296	315	166	253						317	168	251						317	172	253				
						294	319	168	251						317	168	255							319	170	253						319	174	255				
						296	321	170	253						319	170	257							321	172	255						321	176	259				
							323	172	255							321	172	259							325	174	257						327	178				
							325	174	257							323	174	341							327	176	259						329	180				
							327	176	259							325	176								329	178							331					
							329	178								327	180								331	180							333					
							331	180								329									333	182							335					
							333	182								331									335	188							341					
							335	188								333									339								345					
							339									335									341													
							341									339									343													
							343									341									345													
							345									345									347													
							347									347									349													
							349																															
Effectifs	8	6	9	11	8	19	32	26	22	7	6	10	10	7	17	31	23	21	8	7	9	7	6	15	31	25	21	6	3	10	9	5	15	26	21	19		
	141										132										129										114							

Légende :

■ : Allèles propres aux extérieurs non-A ; ■ : Allèles propres sur A aux "non-plantés" ; ____ : Allèles non retrouvés dans une autre population.

Annexe 11 – tableau des fréquences alléliques par populations du site A

Locus	Allèles	Plantés A1	Plantés A2	Plantés A3	Reproducteurs extérieurs	Juvéniles
Gd_111_R	109	0,087	0,033	0,024	0,009	0,018
	112	0,007	0,011	0,119	0,012	0,026
	115	0,000	0,022	0,000	0,019	0,000
	118	0,428	0,522	0,389	0,551	0,483
	121	0,246	0,247	0,444	0,338	0,371
	124	0,000	0,000	0,000	0,005	0,003
	127	0,188	0,148	0,008	0,009	0,049
	130	0,043	0,016	0,016	0,058	0,049
	133	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001
Gd_4216_R	239	0,000	0,000	0,000	0,005	0,000
	241	0,037	0,000	0,000	0,019	0,001
	243	0,000	0,005	0,000	0,002	0,002
	245	0,184	0,181	0,040	0,116	0,082
	247	0,735	0,797	0,913	0,801	0,835
	249	0,037	0,016	0,048	0,056	0,080
	251	0,007	0,000	0,000	0,000	0,001
	257	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000
Gd_498_R	121	0,000	0,005	0,000	0,000	0,000
	127	0,043	0,088	0,095	0,132	0,114
	130	0,304	0,308	0,190	0,171	0,201
	136	0,145	0,181	0,333	0,222	0,242
	139	0,007	0,044	0,056	0,074	0,086
	142	0,087	0,088	0,016	0,051	0,024
	145	0,000	0,000	0,032	0,016	0,007
	148	0,406	0,280	0,270	0,319	0,311

	151	0,000	0,000	0,008	0,000	0,000
	163	0,007	0,005	0,000	0,012	0,012
	166	0,000	0,000	0,000	0,002	0,003
<hr/>						
Gd_962_R	304	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001
	328	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002
	337	0,000	0,005	0,008	0,009	0,009
	340	0,210	0,170	0,127	0,222	0,202
	343	0,029	0,033	0,056	0,053	0,048
	346	0,000	0,005	0,024	0,000	0,024
	349	0,065	0,066	0,151	0,132	0,116
	352	0,399	0,368	0,214	0,231	0,269
	355	0,239	0,308	0,413	0,317	0,287
	358	0,058	0,027	0,008	0,035	0,032
	361	0,000	0,011	0,000	0,000	0,009
	367	0,000	0,005	0,000	0,000	0,000
<hr/>						
Gd_4223_R	299	0,014	0,000	0,000	0,000	0,001
	301	0,094	0,165	0,135	0,129	0,183
	303	0,036	0,118	0,151	0,083	0,061
	305	0,478	0,347	0,611	0,646	0,636
	307	0,304	0,335	0,040	0,100	0,065
	309	0,000	0,000	0,000	0,005	0,005
	311	0,051	0,035	0,063	0,039	0,048
	313	0,022	0,000	0,000	0,000	0,001
<hr/>						
Gd_4225_R	256	0,007	0,005	0,024	0,009	0,009
	262	0,007	0,005	0,016	0,012	0,005
	264	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001
	266	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003
	268	0,022	0,027	0,008	0,005	0,007


	270	0,000	0,011	0,071	0,030	0,020
	272	0,246	0,253	0,183	0,271	0,285
	274	0,029	0,066	0,087	0,063	0,070
	276	0,094	0,038	0,056	0,046	0,032
	278	0,007	0,016	0,135	0,023	0,020
	280	0,058	0,049	0,127	0,164	0,131
	282	0,116	0,137	0,127	0,194	0,164
	284	0,152	0,181	0,063	0,060	0,122
	286	0,007	0,005	0,040	0,042	0,030
	288	0,159	0,137	0,048	0,058	0,077
	290	0,072	0,060	0,008	0,016	0,019
	292	0,000	0,000	0,008	0,007	0,004
	294	0,000	0,005	0,000	0,000	0,001
	296	0,022	0,000	0,000	0,000	0,002
Gd_4228_R	279	0,000	0,000	0,008	0,000	0,001
	283	0,036	0,027	0,016	0,037	0,045
	285	0,043	0,049	0,071	0,039	0,042
	289	0,022	0,071	0,024	0,025	0,049
	291	0,000	0,000	0,032	0,025	0,007
	293	0,000	0,005	0,000	0,005	0,000
	295	0,000	0,011	0,040	0,014	0,011
	297	0,043	0,038	0,063	0,093	0,076
	299	0,225	0,214	0,048	0,111	0,133
	301	0,051	0,088	0,119	0,058	0,054
	303	0,036	0,016	0,071	0,049	0,061
	305	0,029	0,033	0,048	0,037	0,020
	307	0,101	0,044	0,071	0,104	0,117
	309	0,029	0,044	0,111	0,051	0,053

	311	0,022	0,022	0,032	0,037	0,032
	313	0,007	0,005	0,040	0,019	0,023
	315	0,072	0,038	0,024	0,053	0,095
	317	0,036	0,016	0,056	0,028	0,020
	319	0,007	0,000	0,008	0,007	0,008
	321	0,007	0,000	0,000	0,002	0,008
	323	0,007	0,000	0,000	0,000	0,003
	325	0,007	0,000	0,008	0,019	0,009
	327	0,014	0,016	0,024	0,039	0,030
	329	0,123	0,165	0,040	0,042	0,027
	331	0,000	0,005	0,008	0,023	0,010
	333	0,065	0,071	0,016	0,023	0,019
	335	0,007	0,000	0,008	0,005	0,008
	339	0,000	0,000	0,008	0,009	0,011
	341	0,000	0,011	0,000	0,021	0,018
	343	0,000	0,000	0,000	0,007	0,003
	345	0,000	0,000	0,008	0,009	0,002
	347	0,007	0,005	0,000	0,007	0,004
	349	0,000	0,000	0,000	0,002	0,003
<hr/>						
Gd_472b_R	126	0,000	0,000	0,008	0,012	0,004
	128	0,007	0,044	0,008	0,000	0,002
	134	0,007	0,022	0,032	0,049	0,038
	138	0,522	0,571	0,222	0,292	0,299
	140	0,029	0,049	0,095	0,046	0,080
	142	0,022	0,000	0,048	0,044	0,074
	144	0,036	0,005	0,056	0,028	0,049
	146	0,000	0,005	0,032	0,025	0,029
	148	0,036	0,022	0,040	0,039	0,060

	150	0,000	0,000	0,000	0,002	0,002
	152	0,000	0,000	0,032	0,019	0,006
	154	0,014	0,011	0,016	0,044	0,040
	156	0,000	0,005	0,000	0,000	0,000
	158	0,065	0,071	0,095	0,046	0,056
	160	0,022	0,033	0,063	0,067	0,051
	162	0,029	0,049	0,040	0,044	0,038
	164	0,043	0,011	0,079	0,079	0,065
	166	0,014	0,011	0,016	0,023	0,032
	168	0,022	0,033	0,071	0,044	0,030
	170	0,029	0,016	0,040	0,032	0,013
	172	0,007	0,000	0,000	0,023	0,006
	174	0,087	0,038	0,000	0,016	0,014
	176	0,000	0,000	0,008	0,005	0,001
	178	0,000	0,000	0,000	0,007	0,001
	180	0,007	0,000	0,000	0,007	0,003
	182	0,000	0,000	0,000	0,002	0,001
	188	0,000	0,000	0,000	0,005	0,008
Gd_767_R	207	0,000	0,005	0,000	0,002	0,004
	211	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001
	219	0,000	0,000	0,000	0,005	0,012
	223	0,464	0,500	0,317	0,454	0,384
	225	0,022	0,016	0,063	0,016	0,021
	227	0,007	0,011	0,032	0,035	0,014
	229	0,000	0,005	0,000	0,005	0,003
	231	0,007	0,016	0,016	0,032	0,068
	233	0,225	0,225	0,063	0,134	0,177
	235	0,087	0,082	0,095	0,058	0,061

237	0,000	0,011	0,024	0,019	0,014
239	0,014	0,005	0,008	0,007	0,014
241	0,000	0,016	0,079	0,012	0,023
243	0,058	0,011	0,040	0,037	0,055
245	0,051	0,049	0,135	0,046	0,067
247	0,014	0,022	0,008	0,014	0,016
249	0,000	0,000	0,008	0,005	0,001
251	0,007	0,005	0,032	0,032	0,009
253	0,022	0,005	0,032	0,044	0,030
255	0,014	0,000	0,040	0,016	0,014
257	0,000	0,005	0,008	0,021	0,009
259	0,007	0,000	0,000	0,007	0,002
341	0,000	0,005	0,000	0,000	0,000

Légende :

 Allèles propres aux « non plantés » sur le site.

Annexe 12 – Tableau des hétérozygoties et indices de fixation.

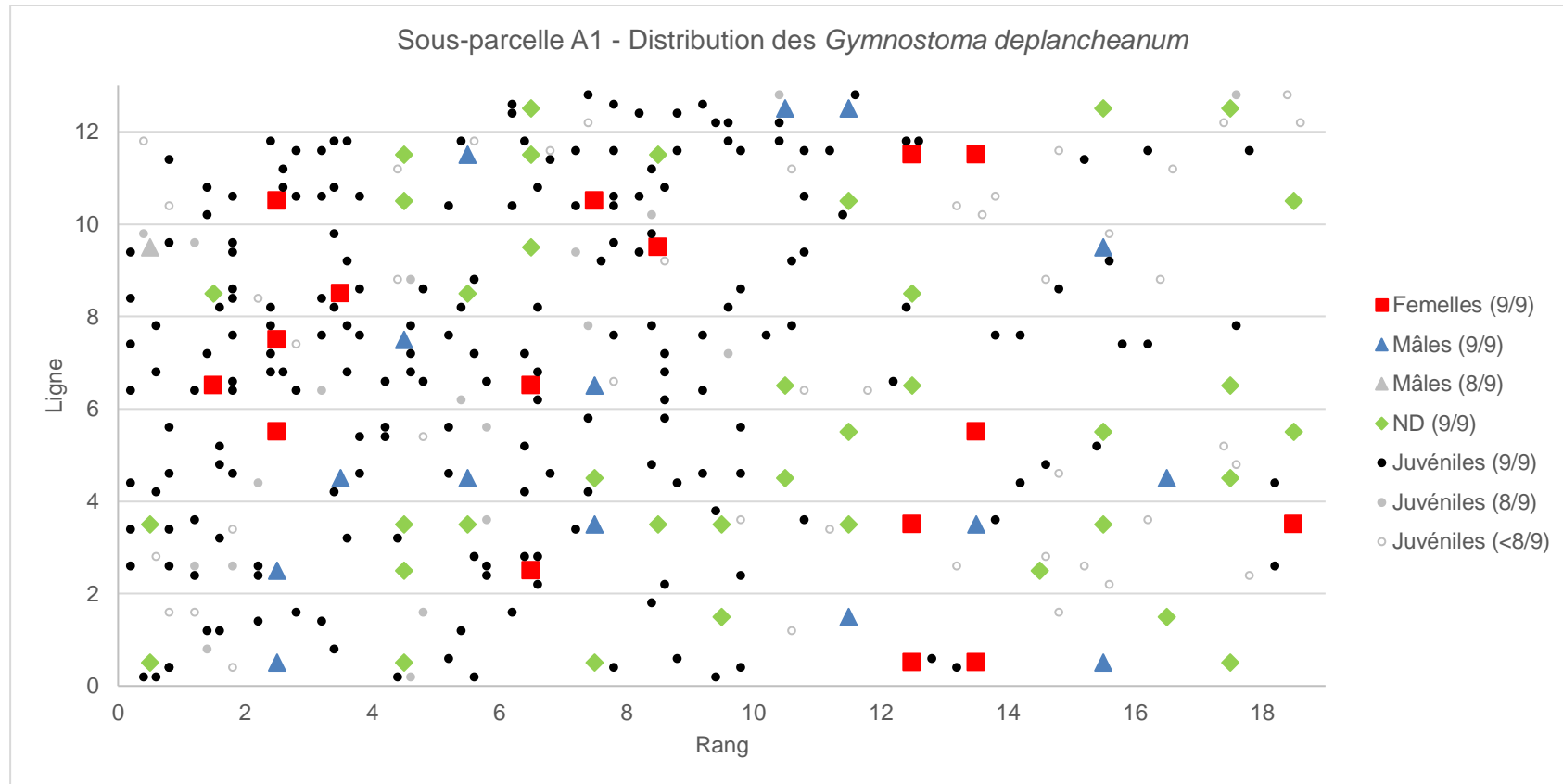
Populations	Locus	N	Na	Ho	He	uHe	F
Plantés A1	Gd_111_R	69	6,000	0,754	0,712	0,717	-0,059
	Gd_4216_R	68	5,000	0,426	0,423	0,426	-0,009
	Gd_498_R	69	7,000	0,696	0,712	0,717	0,023
	Gd_962_R	69	6,000	0,797	0,731	0,737	-0,090
	Gd_4223_R	69	7,000	0,174	0,665	0,670	0,739
	Gd_4225_R	69	14,000	0,870	0,858	0,864	-0,014
	Gd_4228_R	69	23,000	0,884	0,901	0,908	0,019
	Gd_472b_R	69	18,000	0,739	0,707	0,712	-0,046
	Gd_767_R	69	14,000	0,696	0,719	0,724	0,033
Plantés A2	Gd_111_R	91	7,000	0,527	0,642	0,646	0,179
	Gd_4216_R	91	4,000	0,341	0,332	0,334	-0,026
	Gd_498_R	91	8,000	0,857	0,776	0,781	-0,104
	Gd_962_R	91	10,000	0,747	0,734	0,738	-0,018
	Gd_4223_R	85	5,000	0,212	0,725	0,729	0,708
	Gd_4225_R	91	15,000	0,890	0,852	0,857	-0,044
	Gd_4228_R	91	22,000	0,846	0,896	0,901	0,056
	Gd_472b_R	91	17,000	0,725	0,656	0,660	-0,105
	Gd_767_R	91	18,000	0,703	0,688	0,692	-0,022
Plantés A3	Gd_111_R	63	6,000	0,508	0,636	0,641	0,202
	Gd_4216_R	63	3,000	0,127	0,163	0,164	0,222
	Gd_498_R	63	8,000	0,746	0,766	0,772	0,026
	Gd_962_R	63	8,000	0,683	0,741	0,747	0,079
	Gd_4223_R	63	5,000	0,159	0,580	0,585	0,726
	Gd_4225_R	63	15,000	0,810	0,892	0,899	0,092
	Gd_4228_R	63	26,000	0,794	0,937	0,945	0,153
	Gd_472b_R	63	19,000	0,873	0,903	0,910	0,033

	Gd_767_R	63	17,000	0,794	0,850	0,857	0,067
Adultes ext.	Gd_111_R	216	8,000	0,454	0,578	0,580	0,215
	Gd_4216_R	216	7,000	0,236	0,342	0,342	0,309
	Gd_498_R	216	9,000	0,787	0,793	0,795	0,008
	Gd_962_R	216	7,000	0,792	0,775	0,777	-0,022
	Gd_4223_R	206	6,000	0,121	0,548	0,550	0,779
	Gd_4225_R	216	15,000	0,806	0,845	0,847	0,047
	Gd_4228_R	216	31,000	0,894	0,943	0,946	0,053
	Gd_472b_R	216	25,000	0,847	0,884	0,886	0,041
	Gd_767_R	216	21,000	0,718	0,762	0,764	0,059
Juvéniles	Gd_111_R	529	8,000	0,480	0,624	0,624	0,230
	Gd_4216_R	527	6,000	0,268	0,290	0,290	0,077
	Gd_498_R	529	9,000	0,803	0,783	0,784	-0,026
	Gd_962_R	529	11,000	0,783	0,786	0,787	0,005
	Gd_4223_R	514	8,000	0,117	0,552	0,552	0,788
	Gd_4225_R	529	19,000	0,849	0,846	0,847	-0,003
	Gd_4228_R	529	32,000	0,875	0,933	0,934	0,062
	Gd_472b_R	515	26,000	0,783	0,875	0,876	0,106
	Gd_767_R	527	23,000	0,776	0,802	0,803	0,032

Effectifs (N), nombre d'allèles (NA), hétérozygotie observée (Ho), hétérozygotie attendue (He), hétérozygotie attendue non biaisée (uHe), index de fixation (F)

Pour mémoire, un $F < 0$ marque un excès d'hétérozygotie, *a contrario* un déficit pour $F > 0$, et l'équilibre à $F = 0$.

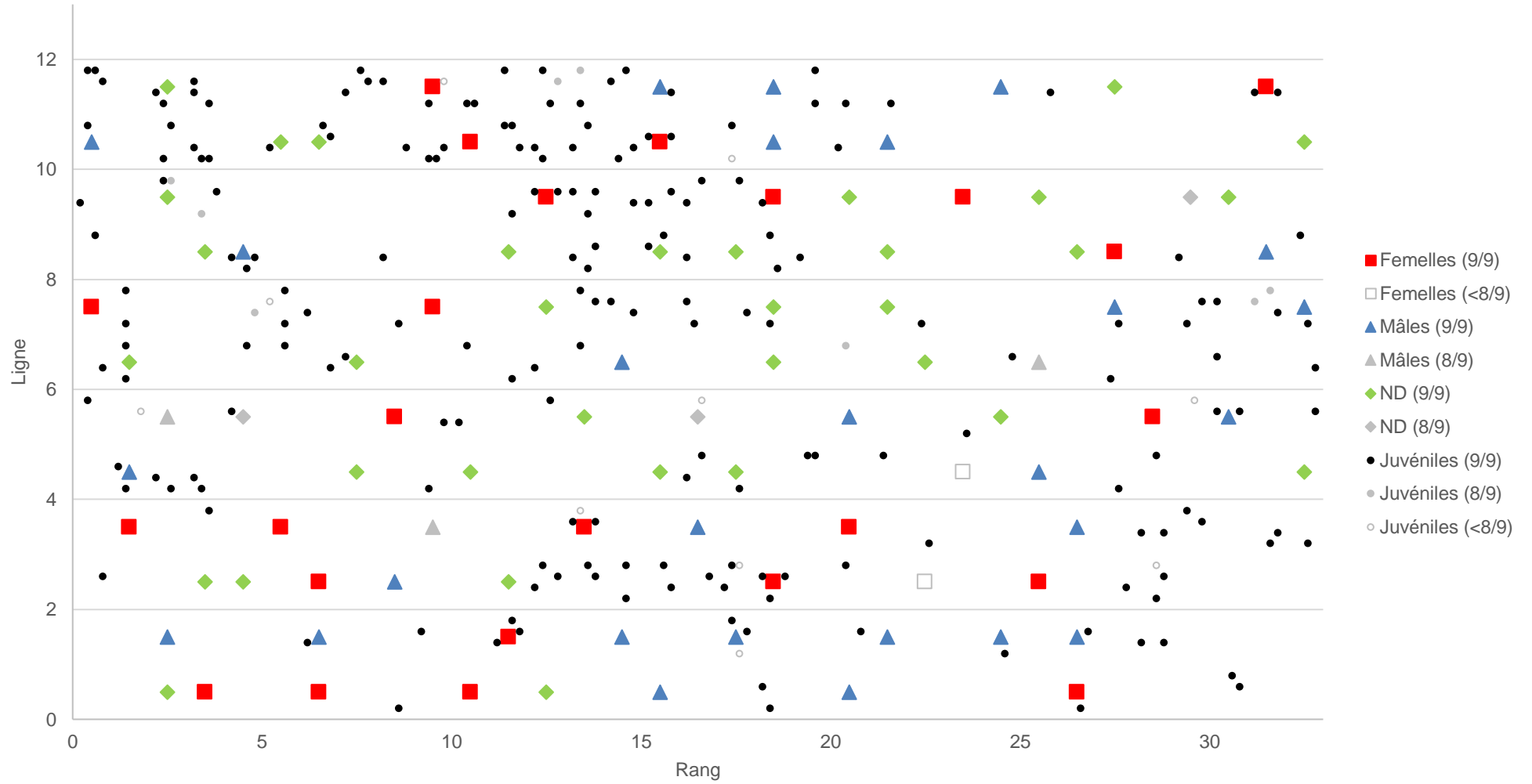
Annexe 13 – Distribution des individus génotypés par site de la zone de l'Ancienne pépinière (A1, A2 et A3).



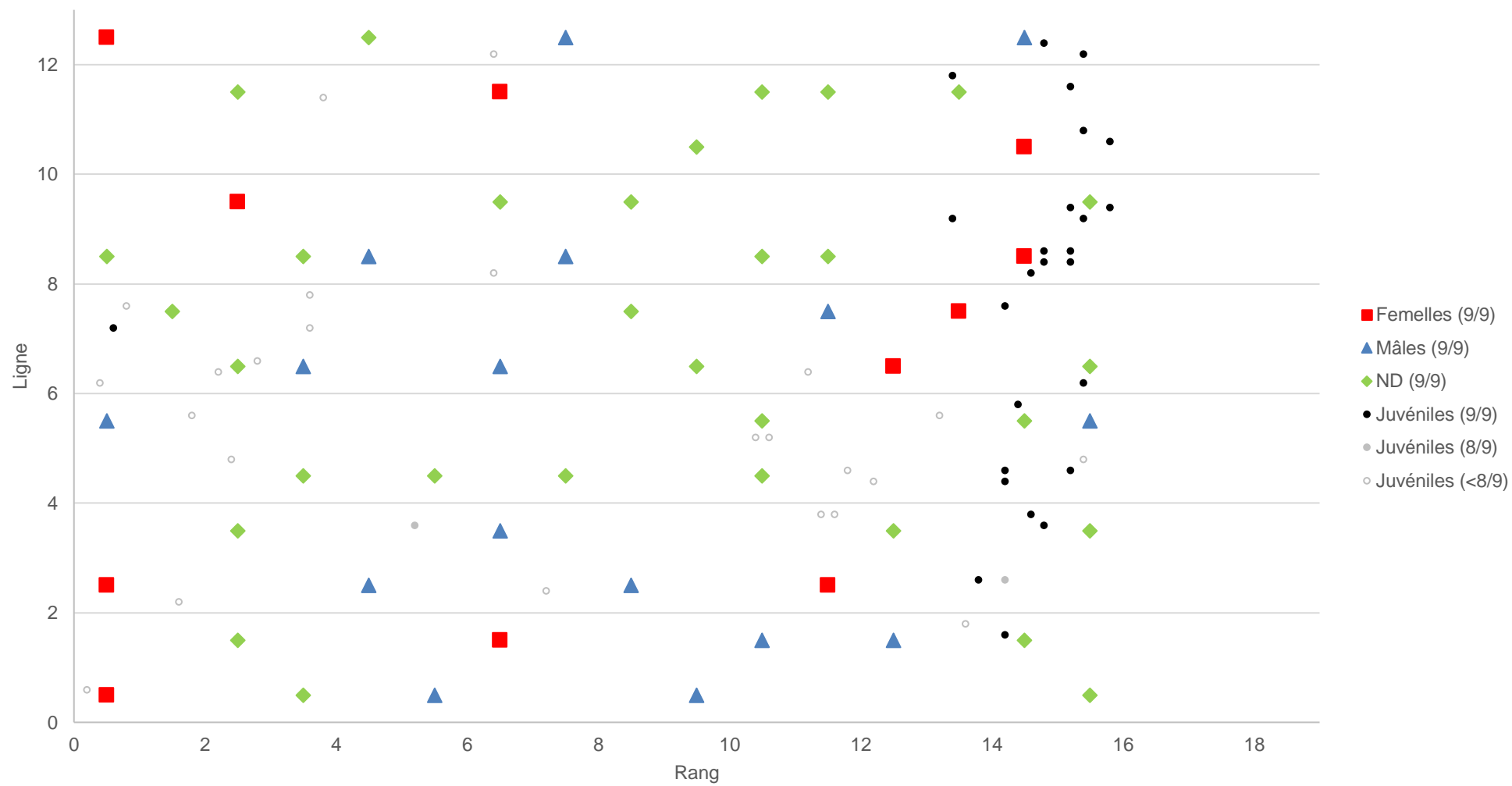
ND : genre non déterminé

9/9, 8/9, <8/9 : nombre de loci génotypés sur les 9 utilisés pour les individus considérés

Sous-parcelle A2 - Distribution des *Gymnostoma deplancheanum*



Sous-parcelle A3 - Distribution des *Gymnostoma deplancheanum*



Annexe 14 – Descendances avec couple de parents possibles.

Juveniles	Père potentiel	Parent potentiel	Mère potentielle	locus	manquant
1J090621	1A0807M		3A1509F		
2J081222	2A0509M	1A0712N			
	2A0509M		eF01A1F		
2J161142		1A1002N	3A1007N		
		1A1002N	3A1203F		
2J190972		2A2209N	eF1749F	4223	
	1A0807M		eF1749F	4223	
	eM1444M		1A1301F		
	eM1444M		eF1390F		
	eM1444M		eF1405F		
2J210731	eM1755M		eF1441F		767
3J160542		2A1203N	eF1402F		
		3A0405N	eF1402F		
	eM1740M		eF1402F		
eJ1433	eM1434M	1A1002N		4223	472b
	eM1434M	2A1805N		4223	472b

Annexe 15 – Résultats des analyses physico-chimiques des sols.

Les sols des différents systèmes étudiés présentent de très fortes disparités en matière de caractéristiques physico-chimiques et organiques. Les valeurs des pH_{H_2O} et pH_{KCl} , des sites revégétalisés est systématiquement plus élevées que celles des écosystèmes de référence. Ainsi, les sols des sites A1 à C, présentaient des valeurs de pH_{H_2O} et pH_{KCl} supérieures à 5, soit des valeurs de pH acide à peu acide (Tableau A). Pour les écosystèmes de référence, les valeurs moyennes de pH étaient légèrement plus élevées pour les sols de maquis ouverts que pour les sols des autres types de maquis. En revanche, les valeurs de pH_{H_2O} et pH_{KCl} indiquaient des valeurs de pH des sols très acide à hyper acide, pour les sols de maquis ouvert et des autres types de maquis fermés, respectivement.

Tableau A. Valeurs moyennes et écart-types (sd) du pH mesuré dans l'eau et dans une solution de KCl 1M (ratio 1 : 2.5), de l'acidité échangeable ($pH_{H_2O} - pH_{KCl}$) et de la capacité d'échange cationique (CEC, en $cmol^+ kg^{-1}$) des sols des différents écosystèmes étudiés.

	pH_{H_2O}		pH_{KCl}		Acidité échangeable		CEC* ($cmol^+ kg^{-1}$)	
	Moyenne	sd	Moyenne	sd	Moyenne	sd	Moyenne	sd
Zones revégétalisées								
A1	5.01	0.28	5.24	0.40	-0.23	0.19	1.97	1.12
A2	5.38	0.19	5.44	0.17	-0.06	0.20	2.69	1.10
A3	5.41	0.06	5.81	0.10	-0.40	0.07	0.87	0.29
B	5.52	0.18	5.36	0.21	0.16	0.19	5.77	3.51
C	5.13	0.05	5.21	0.08	-0.08	0.07	1.97	0.58
Ecosystèmes de référence								
Maquis ouvert	4.78	0.16	4.50	0.27	0.28	0.22	7.84	3.53
Maquis dense	3.23	0.23	2.44	0.26	0.74	0.26	57.98	21.64
Maquis à <i>Gymnostoma</i> sp.	3.59	0.70	2.60	0.76	0.99	0.15	62.13	9.64
Maquis paraforestier	3.59	0.34	2.68	0.44	0.92	0.23	51.95	15.33

* Capacité d'Echange Cationique

Notons que (i) les valeurs de pH_{KCl} étaient plus élevées que les valeurs de pH_{H_2O} pour les sites revégétalisés, et que (ii) l'acidité échangeable moyenne présentait des valeurs croissantes des sites revégétalisés vers les écosystèmes de référence (*Gymnostoma deplancheanum* et paraforestier) (Tableau A). Ainsi, les valeurs négatives d'acidité échangeable mettaient en exergue la capacité d'échange anionique des sols connue dans les sols riches en oxydes métalliques (e.g. Becquer et al. 2001⁴). Les valeurs positives d'acidité échangeable mettaient en évidence la capacité d'échange cationique et le pouvoir tampon des sols. En effet, les valeurs de CEC étaient plus élevées d'un ordre de grandeur pour les sols de maquis denses à paraforestiers que pour les maquis ouverts et les sites revégétalisés. Précisons que les valeurs de CEC présentées ici, sont probablement surestimées en raison de la méthode utilisée, la méthode Metson, qui donne une indication de la taille du complexe d'échange pour un pH tamponné à 7. Bien que mondialement utilisée, cette méthode tend à surestimer les valeurs de CEC pour des sols dont le pH est acide (ce qui est systématiquement le cas dans

⁴ Becquer, T., Pétard, J., Duwig, C., Bourdon, E., Moreau, R., Herbillon, A.J. 2001. Mineralogical, chemical and charge properties of geric ferralsols from New Caledonia. *Geoderma* 103, 291-306.

notre étude), et tend à considérer des ions solubles qui ne sont pas des ions échangeables. Quels que soient les biais méthodologiques introduits, il apparaît clairement que les valeurs de CEC, et d'acidité potentielle étaient plus élevées dans les sols de maquis denses, à *Gymnostoma deplancheanum*, et paraforestiers. Les ferralsols présentent généralement des phyllites de type kaolinite (1/1) ; en revanche l'absence d'aluminium dans les roches ultrabasiques conduit à une absence de cette argile. La minéralogie de ces sols est ainsi constituée principalement d'oxy-hydroxydes de fer ; c'est pourquoi dans ces sols, la matière organique représente l'actrice majeure de la capacité d'échange cationique, et il existe, de fait, une relation croissante entre la CEC mesurée et le contenu en matière organique. Les teneurs moyennes en MO variaient entre 0.87% pour la parcelle revégétalisée A3 à plus de 75% pour les systèmes de maquis fermés (Tableau B). Cependant, si les teneurs en matière organique sont importantes dans ces sols, les rapports C/N, supérieurs à 15 voire 30 (excepté pour la parcelle A3), suggéraient une matière organique mal évoluée.

Tableau B. Caractéristiques de la matière organique des sols des différents écosystèmes étudiés. Les valeurs moyennes avec écart-type (sd) sont indiquées pour le carbone et l'azote total (g kg^{-1}), pour la matière organique et le rapport C/N. En raison de l'absence de carbone minéral, la teneur en matière organique a été estimée à partir du carbone total ($\text{MO} = 1.724 \times \text{C}_{\text{total}}$).

	$\text{C}_{\text{total}} (\text{g kg}^{-1})$		MO (%)		C/N		$\text{N}_{\text{total}} (\text{g kg}^{-1})$	
	Moyenne	sd	Moyenne	sd	Moyenne	sd	Moyenne	sd
Zones revégétalisées								
A1	14.64	4.09	2.52	0.71	21.24	2.18	0.68	0.12
A2	17.24	5.12	2.97	0.88	21.82	2.51	0.78	0.17
A3	5.05	2.00	0.87	0.34	10.15	3.64	0.49	0.03
B	29.75	18.07	5.13	3.12	22.06	3.05	1.30	0.69
C	13.72	3.13	2.36	0.54	15.93	1.45	0.85	0.14
Ecosystèmes de référence								
Maquis ouvert	41.76	18.80	7.20	3.24	20.03	3.70	2.05	0.73
Maquis dense	458.77	47.77	79.09	8.24	28.92	3.63	15.96	1.43
Maquis à <i>Gymnostoma sp.</i>	439.75	142.33	75.81	24.54	32.25	5.64	13.24	3.87
Maquis paraforestier	451.66	112.05	77.87	19.32	36.63	8.14	12.39	2.78

La matière organique représente un stock important d'éléments nutritifs qui pourront être disponibles pour les communautés microbiennes et végétales. Ainsi, les quantités moyennes de phosphore assimilable étaient relativement élevées dans les sols des maquis fermés, alors qu'elles étaient proches de 0 dans les systèmes de maquis ouvert (Tableau C). Le phosphore tend, en effet, à être immobilisé par les oxydes métalliques, la matière organique représente alors une réserve importante de phosphore potentiellement disponible, et ce particulièrement dans les sols de maquis fermés qui disposent des teneurs en MO les plus élevées. De même, les teneurs en azote du sol (Tableau B) comme la quantité d'azote assimilable (Tableau C) présentaient un gradient croissant de variation selon la séquence suivante : sites revégétalisés < maquis ouvert < maquis fermés (Tableaux B, C). Il est à noter que l'azote assimilable du sol était majoritairement représenté par de l'ammonium (N-NH_4) suggérant un processus d'ammonification prépondérant sur le processus de nitrification, particulièrement dans les sols des maquis « fermés » (Tableau C). Ces caractéristiques peuvent être mises en lien avec le C/N particulièrement élevé des sols de maquis « fermés », suggérant des conditions peu propices à la nitrification.

Tableau C– Valeurs moyennes et écart-type (sd) de l’azote (N-NO₃, N-NH₄ et total, en mg kg⁻¹) et du phosphore (mg kg⁻¹) assimilable mesurés dans les sols des différents systèmes étudiés.

	N-NO ₃ (mg kg ⁻¹)		N-NH ₄ (mg kg ⁻¹)		Azote assimilable total (mg kg ⁻¹)		Phosphore assimilable (mg kg ⁻¹)	
	Moyenne	sd	Moyenne	sd	Moyenne	sd	Moyenne	sd
Zones revégétalisées								
A1	0.11	0.04	0.40	0.19	0.54	0.14	0.25	0.50
A2	0.05	0.02	0.80	0.58	0.86	0.58	n.d.	n.d.
A3	0.09	0.09	0.99	0.82	1.12	0.76	n.d.	n.d.
B	0.25	0.04	1.52	1.16	1.83	1.09	n.d.	n.d.
C	0.15	0.10	2.01	0.92	2.18	0.98	n.d.	n.d.
Ecosystèmes de référence								
Maquis ouvert	0.20	0.07	0.81	0.34	1.01	0.37	1.00	4.69
Maquis dense	0.24	0.44	13.12	5.36	13.39	5.55	17.04	9.00
Maquis à <i>Gymnostoma</i>	0.07	0.11	18.18	7.61	18.26	7.62	16.38	9.16
Maquis paraforestier	0.15	0.16	13.80	3.82	13.97	3.82	14.96	9.56

Ainsi, dans ces sols, pauvres en minéraux argileux, et à faible CEC, la matière organique apparaît comme une actrice majeure du fonctionnement biologique de ces systèmes, aussi bien microbiens que végétaux, de part sa capacité à retenir les éléments nutritifs et probablement l’eau. Les teneurs très importantes en matière organique dans les sols de maquis fermés, ainsi que les valeurs de pH hyper-acide, suggèrent la mise en place d’humus de type mor, pour lequel l’activité microbienne, notamment les activités de nitrification, pourrait être ralentie sans pour autant que cela ne porte préjudice à la flore native.

L’étude de la qualité physico-chimique des sols a permis de distinguer clairement deux groupes : (i) les parcelles revégétalisées, et (ii) les maquis denses à paraforestiers ; les sols des maquis ouverts présentent des caractéristiques intermédiaires. Le premier groupe est caractérisé par des sols à pH légèrement acide, dont la capacité d’échange est dominée par la capacité d’échange anionique, présentant des teneurs en matière organique relativement faibles, et de fait des teneurs en azote et en disponibilité d’éléments nutritifs (N minéral, P) faibles à nuls. *A contrario*, les sols des maquis denses à paraforestiers, présentent des pH hyper-acides mais avec des teneurs en matière organique très importantes, qui leur confèrent une capacité d’échange cationique et une réserve en éléments nutritifs plus importantes. Bien que potentiellement ralentie par les conditions d’hyper-acidité, la minéralisation de la matière organique des sols dans les maquis « fermés » mène à la production d’éléments nutritifs en concentration plus importantes que dans les sols des sites revégétalisés.

S’il apparaît essentiel de coupler la qualité physico-chimique des sols aux communautés microbiennes identifiées dans cette étude, il apparaît primordial de comprendre et quantifier les liens entre les communautés, les fonctions biologiques et activités microbiennes, et les caractéristiques organiques des sols de ces différents systèmes.

